2 4.02.00

庁 PATENT OFFICE

JAPANESE GOVERNMENT

REC'D 1 4 APR 2000 WIPO PCT

別紙添付の書類に記載されている事項は下記の出願書類に記載されて いる事項と同一であることを証明する。

This is to certify that the annexed is a true copy of the following application as filed with this Office.

出願年月日 Date of Application:

1999年 2月24日

出願番号 Application Number:

平成11年特許顯第093263号

出 顧 人 Applicant (s):

財団法人癌研究会

PRIORITY SUBMITTED OR TRANSMITTED IN COMPLIANCE WITH RULE 17.1(a) OR (b)

2000年 3月31日

特許庁長官 Commissioner, Patent Office

【書類名】

特許願

【整理番号】

H11-0241J2

【提出日】

平成11年 2月24日

【あて先】

特許庁長官殿

【国際特許分類】

C12N 15/09

【発明者】

【住所又は居所】

東京都板橋区加賀2-3-1-301

【氏名】

濱田 洋文

【特許出願人】

【識別番号】

000173588

【氏名又は名称】

財団法人癌研究会

【代表者】

渡邉 宏

【代理人】

【識別番号】

100106574

【弁理士】

【氏名又は名称】

岩橋 和幸

【提出物件の目録】

【物件名】

明細書 1

【物件名】

図面 1

【物件名】

要約書 1

【物件名】

委任状 1

【物件名】

原寄託についての受託証 1



【発明の名称】 ウイルスベクター

【特許請求の範囲】

【請求項1】 ウイルスを構成するタンパク質に、メラニン細胞刺激ホルモン (MSH) 受容体に特異的に結合するリガンドを結合させてなるウイルスベクター。

【請求項2】 ウイルスを構成するタンパク質が、リンカーを介してメラニン 細胞刺激ホルモン (MSH) 受容体に特異的に結合するリガンドに結合している 請求項1記載のウイルスベクター。

【請求項3】 リンカーがオリゴペプチドである請求項2記載のベクター。

【請求項4】 リンカーが配列番号25、27、29および31のいずれかに 示されるアミノ酸配列を有する請求項3記載のベクター。

【請求項5】 ウイルスを構成するタンパク質が、ウイルスの外表面を構成するタンパク質である請求項1~4のいずれかに記載のベクター。

【請求項 6 】 リガンドが、 $\alpha-MSH$ 、 $\beta-MSH$ 、 $\gamma-MSH$ およびこれらのいずれかの誘導体からなる群より選ばれるリガンドである請求項 $1\sim 5$ のいずれかに記載のベクター。

【請求項7】 ウイルスが、アデノウイルス科、レトロウイルス科、パルボウイルス科、ヘルペスウイルス科、ポックスウイルス科、パポーバウイルス科、ヘパドナウイルス科、トガウイルス科、フラビウイルス科、コロナウイルス科、ラブドウイルス科、パラミクソウイルス科、オルソミクソウイルス科、バンヤウイルス科、アレナウイルス科およびレオウイルス科よりなる群のいずれかの科に属

するウイルスから選ばれる請求項1~6のいずれかに記載のベクター。

【請求項8】 ウイルスがヒトアデノウイルスである請求項1~6のいずれかに記載のベクター。

【請求項9】 ウイルスが外来の遺伝子を含むウイルスである請求項1~8のいずれかに記載のベクター。

【請求項10】 遺伝子が、非毒性のプロドラッグを細胞毒性を有する薬剤に変換することができる酵素をコードする遺伝子である請求項9記載のベクター。

【請求項11】 遺伝子が、単純ヘルペスウイルス・チミジンキナーゼ(HS V-tk)またはシトシン・デアミナーゼ(Cytosine deamina se, CD)をコードするものである請求項10記載のベクター。

【請求項12】 遺伝子が、直接または間接的に細胞毒性作用を有する分子を コードするものである請求項9記載のベクター。

【請求項13】 遺伝子がサイトカイン、細胞増殖因子または細胞増殖抑制因子をコードするものである請求項12記載のベクター。

【請求項14】 遺伝子が腫瘍抑制遺伝子、細胞周期調節遺伝子または細胞死 調節遺伝子である請求項12記載のベクター。

【請求項15】 外来の遺伝子が、アデノウイルスE1AないしE1Bの野生型または変異型の遺伝子の全部または一部である請求項9記載のベクター。

【請求項16】 請求項1~15のいずれかに記載のベクターを含有してなる 医薬。

【請求項17】 請求項1~15のいずれかに記載のベクターを含有してなる 抗腫瘍剤。

【請求項18】 腫瘍が悪性黒色腫である請求項17記載の抗腫瘍剤。

【請求項19】 請求項1~15のいずれかに記載のベクターを含有してなる 腫瘍の診断薬。

【請求項20】 腫瘍が悪性黒色腫である請求項19記載の診断薬。

【請求項21】 配列番号25、27、29および31のいずれかに示される アミノ酸配列を有するリンカー。

【請求項22】 請求項21記載のリンカーをコードするDNA。

【請求項23】 配列番号24、26、28および30のいずれかに示される 塩基配列からなるDNA。

【請求項24】 配列番号32~39のいずれかに示されるアミノ酸配列を有するタンパク質。

【請求項25】 請求項24記載のタンパク質をコードするDNA。

【請求項26】 配列番号7、13、17、18、20、21、22および2 3のいずれかに示される塩基配列からなるDNA。

棒

【発明の詳細な説明】

[0001]

【発明の属する技術分野】

本発明は、ウイルスを構成するタンパク質に、メラニン細胞刺激ホルモン (M S H) 受容体に特異的に結合するリガンドを結合させてなるウイルスベクターおよび、該ベクターを用いた腫瘍に対する診断薬および治療薬に関する。

[0002]

【従来の技術】

転移を伴う悪性黒色腫は、放射線療法や化学療法などの従来の治療法に抵抗性であり、予後はきわめて不良である。そのため、新しい有効な治療法の開発が強く望まれる。一方、ウイルスベクターなどを介した遺伝子導入を用いた癌治療法(癌に対する遺伝子治療法)は、近年多くの臨床研究が開始され、期待を集めている。

[0003]

しかしながら、現在、悪性黒色腫に対して十分に治療効果をあげるような効果 的な遺伝子導入を行う方法は確立されていない。例えば、従来のレトロウイルス 、アデノウイルス、アデノウイルス随伴ウイルス(AAV)などのウイルスベク ターでは悪性黒色腫細胞に対する遺伝子導入効率は十分でない。

本発明者らは現行のアデノウイルスベクターの悪性黒色腫細胞株に対する遺伝子導入効率について検討し、比較的高いMOI (multiplicity of infection)のウイルスを用いても充分な遺伝子導入効率が得られないことを示している [Yoshida et al., Hum Gene Ther., 9 (17)2503-2515,1998、(以下、Yoshida et al., 1998と略記する)]。この論文に示された結果中、MOI100では、A375ヒト悪性黒色腫細胞で50%、RPMI7951悪性黒色腫細胞で80%、WM115悪性黒色腫細胞で50%程度の遺伝子導入効率が得られるに過ぎず、100%に近い遺伝子導入を得るにはさらに大量のアデノウイルスの投与を必要とする。

[0004]

現行のウイルスベクターは、単に遺伝子導入の効率が低いのみでなく、周辺の 正常細胞にも非選択的に遺伝子が導入されるという欠点を持つ。すなわち、悪性 黒色腫の治療を行うベクターとしては、効率が低く、悪性黒色腫に対する選択性 も乏しい。

アデノウイルスのファイバーのC末端ないしHIループ部分に変異アミノ酸配列を入れて、宿主域を改変する試みは、米国GenVec社のWickham、アラバマ大学のCurielらのグループによって報告されている [Wickham et al., J. Virol. 71, 8221 (1997)、Wickham et al., Gene Ther. 2, 750 (1995)、Wickham et al., Nat. Biotechnology, 14, 1570 (1996)、Curiel et al., Hum. Gene Ther. 3, 147 (1992)、Dimitriev et al., J. Virol. 72, 9706 (1998)、WO94/10323、WO96/07734、]。

[0005]

多くのヒト悪性黒色腫に、MSH受容体が存在しMSHが結合することが報告されている [Siegrist et al., Cancer Res. 49,6352(1989)]。したがって、MSHをウイルスの外皮タンパク質に結合させたウイルスベクターは、悪性黒色腫に効率的に遺伝子を導入できるベクターとなることが予想される。しかし、MSHリガンドを含むベクターの作成に成功したとの報告や、MSH受容体を標的とした遺伝子治療の可能性を実証した報告は見当たらない。アデノウイルス以外のウイルスベクターとしては、レトロウイルスのエンベロープタンパク質に細胞の増殖因子(エリスロポエチン [Kasahara et al., Science 266:1373(1994)]、あるいは単鎖の抗体 [Jiang et al. J. Virol. 72(12):10148(1998)]などを融合するように組み込んで標的化を目指しているもの、あるいは単純ヘルペスウイルスのC糖タンパク質にエリスロポエチンを融合させたもの [Laquerre et al., J. Virol. 72(12):9683(1998)]などがある。Jiangらの報告では、単鎖

抗体の抗原としてEGF(epidermal growth factor) 受容体ファミリーに属するHer2neu、骨髄幹細胞に特異的といわれるCD 34、トランスフェリン受容体が標的として検討されている。また、インデグリ ンと結合するRGDモチーフを人工的に組み込んだキメラウイルスタンパク質の 報告は、アデノウイルスでは前述のWickhamのグループ(Wickham et al., J. Virol. 71:8221 (1997)] ¿Curie 1のグループ [Dimitriev et al., J. Virol. 72:9 706(1998)〕から、さらにアデノウイルス以外では、B型肝炎ウイルス のコアタンパク質 [Chambers et al., J. Virol. 70: 4805 (1996); Sharma et al., Virology 23 9:150 (1997)]、バクテリオファージFdタンパク質 [Koivun en et al., J. Biol. Chem. 268:20205 (1993); Koivunenet al., J. Cell Biol. <u>124</u>:373 (1994)〕などについてすでに報告されている。しかしながら、アデノウイ ルス以外でもMSHリガンドを含むウイルスベクターや、MSH受容体を標的と した遺伝子治療の可能性を実証した報告は見当たらない。

[0006]

【発明が解決しようとする課題】

悪性黒色腫の遺伝子治療を開発してゆくためには、現行のウイルスベクターでは遺伝子導入の効率も選択性も乏しい。従って、悪性黒色腫に対して効率よく選択的に遺伝子導入が可能な手段に対する要望は依然として存在する。そのようなベクターの使用によって、従来の治療に対して抵抗性で予後のきわめて悪い悪性 黒色腫に対してさまざまな遺伝子治療法によるアプローチが必要である。

[0007]

本発明の目的は、悪性黒色腫を含めた腫瘍の治療および診断に有用な、ウイルスを構成するタンパク質にMSH受容体に特異的に結合するリガンドを結合させてなるウイルスベクターおよび当該ウイルスベクターの利用方法を提供することにある。

[0008]

【課題を解決するための手段】

本発明者らは、従来のウイルスベクターによる遺伝子導入法では悪性黒色腫に対し効率が低く選択性に乏しいとの上記問題点が、ウイルスを構成するタンパク質に、MSH受容体に特異的に結合するリガンドを結合させてなるウイルスベクターを用いることにより解決できることを見出し、本発明を完成させた。また、このようなウイルスベクターは、作用機作上、アデノウイルスのファイバーと同様に、ウイルスを構成するタンパク質にMSH受容体に特異的に結合するリガンドを結合させることができる他のウイルスを用いたベクター系にも適用できる。

[0009]

このようなウイルスベクターを悪性黒色腫等のMSH受容体を発現している腫瘍に対して遺伝子導入用のベクターとして用いれば、効率が高く選択性に優れた遺伝子導入が達成される。

従って、本発明によれば、悪性黒色腫等のMSH受容体を発現している腫瘍に対して高効率かつ高選択性のウイルスベクター、さらにはそれをもとにして作成される組換えウイルスベクターが提供される。このような組換えウイルスベクターは、含有させる遺伝子を選ぶことによって、悪性黒色腫等のMSH受容体を発現している腫瘍細胞を特異的に見分ける診断薬として、または当該腫瘍細胞を特異的に殺す癌治療薬として、あるいは当該腫瘍の持つ抗原性を特異的に高める癌の免疫治療剤として適用できる、診断用並びに治療用のベクターとして有用である。

[0010]

従来のアデノウイルスベクターは、ヒト 5 ないし 2 型アデノウイルスをベースとした組換え体が主体で、悪性黒色腫に対する遺伝子導入効率は、50%導入を得られるウイルス量(ED₅₀)がMOI100前後である(Yoshidaet al.,1998)。すなわち、悪性黒色腫に対しては余り高い導入効率が得られない。一方、正常細胞に対してもそれと同等ないしそれ以上の高い効率で遺伝子導入が得られるため、悪性黒色腫に特異的な高い遺伝子導入効率は望めない。本発明のウイルスベクターを用いることにより、1)悪性黒色腫等のMSH受容体を発現している腫瘍に対して従来法に比べ飛躍的に高い導入効率が得ら

れ、2) 周辺の正常細胞に対しては、従来のベクターと同等ないしそれ以下の導入効率であるため、結果として、悪性黒色腫等のMSH受容体を発現している腫瘍に対して特異性の高い遺伝子導入が可能である。そのため、1) 高い発現量が必要な場合は、従来法と同じウイルス量を用いたとしても、標的となる腫瘍細胞に対し従来法よりも高い遺伝子発現が得られ、結果としてより高い効果が得られる。また、2) 比較的低い発現量で充分な効果が得られるような遺伝子の場合には、本ベクターを用いればウイルスの投与量を減らすことが可能であり、結果としてウイルス投与に伴う望ましくない副作用(アレルギー反応や周辺正常細胞の傷害など)を軽減することが可能である。

[0011]

また、E1Aを持つアデノウイルスなどの増殖可能な組換えウイルスと一体型に組み合わせて用いれば、感染効率の増加と、感染したあとの腫瘍組織内でのウイルスの増殖再感染とが相乗的に働き、非常に有効な治療法となる。

従って、本発明は、悪性黒色腫等のMSH受容体を発現している腫瘍の治療に対して高い有用性を有している。

[0012]

ファイバータンパク質のC末端などにMSHとは別種のリガンドを入れた変異アデノウイルスの作成はすでに報告がある。しかし、リガンドを入れたためにアデノウイルスができなくなってしまうものが多い。たとえウイルスができたとしても、得られたものが期待通りの受容体に対するアフィニティーを有していないものである場合も多い [Wickham et al., J. Virol. 71.(11)8221-8229(1997)参照]。従って、既に知られているリガンドから派生する融合タンパク質を用いて、すでに知られている受容体を標的としたベクターであっても、有用なウイルスベクターが得られるか否かは実際にそれらを作成して、作用させてみるまでは全く不明である。例えば、Wickhamらは、E-セレクチンと結合するモチーフ配列(TRSDITWDQLWWDLMKTS)やラミニンリセプターと結合するモチーフ配列(TSAA(SIKVAV)2)をアデノウイルスのファイバーのC末端に挿入したベクターを作製したが、組換えアデノウイルスはできなかった。また、同様にανインテグ

リンと結合するRGDモチーフを含む配列TS(GRGDTF)3SSやラミニンリセプターと結合するモチーフ配列TS(GYIGSR)3SSを同様に挿入したベクターおよびその組換えアデノウイルスを作製したが、それぞれ予想されるリセプターに対する特異的結合が見られなかったと報告している [Wickham et al. J., Virol. 71(11)8221-8229(1997)]。本発明のウイルスベクターでは悪性黒色腫に対して通常期待される以上の格段に優れた結果が得られた。

[0013]

本発明者は、MSH受容体が多くの黒色腫細胞で発現している [Siegrist et al., Cancer Res. 49, 6352 (1989)] ことと、リガンドであるMSHがMSH受容体に高いアフィニティーで特異的に結合することを利用して、悪性黒色腫細胞に効率よく感染し遺伝子導入できるベクターを完成させた。本発明のベクターは悪性黒色腫だけでなく、MSH受容体を発現している他の腫瘍にも有効である。

[0014]

本発明は、以下の(1)~(26)に関する。

- (1) ウイルスを構成するタンパク質に、MSH受容体に特異的に結合するリガンドを結合させてなるウイルスベクター。
- (2) ウイルスを構成するタンパク質が、リンカーを介してメラニン細胞刺激ホルモン (MSH) 受容体に特異的に結合するリガンドに結合している (1) のウイルスベクター。
- (3) リンカーがオリゴペプチドである(2)のベクター。
- (4) リンカーが配列番号25、27、29および31のいずれかに示されるア ミノ酸配列を有する(3)のベクター。
- (5) ウイルスを構成するタンパク質が、ウイルスの外表面を構成するタンパク 質である(1)~(4)のいずれかのベクター。
- (6)リガンドが、 $\alpha-MSH$ 、 $\beta-MSH$ 、 $\gamma-MSH$ およびこれらのいずれかの誘導体からなる群より選ばれるリガンドである(1) \sim (5)のいずれかのベクター。

- (7) ウイルスが、アデノウイルス科、レトロウイルス科、パルボウイルス科、ヘルペスウイルス科、ポックスウイルス科、パポーバウイルス科、ヘパドナウイルス科、トガウイルス科、フラビウイルス科、コロナウイルス科、ラブドウイルス科、パラミクソウイルス科、オルソミクソウイルス科、バンヤウイルス科、アレナウイルス科およびレオウイルス科よりなる群のいずれかの科に属するウイルスから選ばれる(1)~(6)のいずれかのベクター。
- (8) ウイルスがヒトアデノウイルスである(1) \sim (6) のいずれかのベクター。
- (9) ウイルスが外来の遺伝子を含むウイルスである $(1) \sim (8)$ のいずれかのベクター。
- (10)遺伝子が、非毒性のプロドラッグを細胞毒性を有する薬剤に変換することができる酵素をコードする遺伝子である(9)のベクター。
- (11) 遺伝子が、単純ヘルペスウイルス・チミジンキナーゼ(HSV-tk) またはシトシン・デアミナーゼ(Cytosine deaminase, CD) をコードするものである(10)のベクター。
- (12)遺伝子が、直接または間接的に細胞毒性作用を有する分子をコードする ものである(9)のベクター。
- (13)遺伝子がサイトカイン、細胞増殖因子または細胞増殖抑制因子をコード するものである(12)のベクター。
- (14)遺伝子が腫瘍抑制遺伝子、細胞周期調節遺伝子または細胞死調節遺伝子である(12)のベクター。
- (15)外来の遺伝子が、アデノウイルスE1AないしE1Bの野生型または変

異型の遺伝子の全部または一部である(9)のベクター。

- (16) (1)~(15)のいずれかのベクターを含有してなる医薬。
- (17) (1)~(15)のいずれかのベクターを含有してなる抗腫瘍剤。
- (18) 腫瘍が悪性黒色腫である(17) の抗腫瘍剤。
- (19) (1) \sim (15) のいずれかに記載のベクターを含有してなる腫瘍の診断薬。
- (20) 腫瘍が悪性黒色腫である(19)の診断薬。

- (21) 配列番号25、27、29および31のいずれかに示されるアミノ酸配列を有するリンカー。
- (22) (21) のリンカーをコードするDNA。
- (23)配列番号24、26、28および30のいずれかに示される塩基配列からなるDNA。
- (24)配列番号32~39のいずれかに示されるアミノ酸配列を有するタンパク質。
- (25) (24) 記載のベクターをコードするDNA。
- (26)配列番号7、13、17、18、20、21、22および23のいずれかに示される塩基配列からなるDNA。

[0015]

【発明の実施の形態】

本発明のベクターに用いられるウイルスは、アデノウイルス科、レトロウイルス科、パルボウイルス科、ヘルペスウイルス科、ポックスウイルス科、パポーバウイルス科、ヘパドナウイルス科、トガウイルス科、フラビウイルス科、コロナウイルス科、ラブドウイルス科、パラミクソウイルス科、オルソミクソウイルス科、バンヤウイルス科、アレナウイルス科およびレオウイルス科よりなる群のいずれかの科に属するウイルスおよびこれらのウイルスより由来するベクターおよびアデノウイルスドデカヘドロンベクター(Fender et al., Nature Biotech. 15:52-56(1997)〕のようなウイルスタンパク質から由来するベクター、ウイルスタンパク質をリポゾームに組み合わせたベクター(例えば、センダイウイルスとリポゾームベクター等)等が包含されるが、ヒトアデノウイルスが好ましく用いられる。

[0016]

ベクターの作製は、ウイルスを構成するタンパク質をコードするDNAに対し、一般的な組み換えDNA作成技術(Sambrook et al.編、 Molecular cloning:Alaboratory manual, 2nd ed., Cold Spring Harbor Laboratory Press, New York, 1989. などを参照)を用いて該タンパ

ク質とMSHリガンドとの融合タンパク質をコードするように該当するウイルスタンパク質のコード領域を入れかえることによって行なえる。組換えウイルスの作成、あるいはリポゾームとの複合体などの作成については既存の方法に従う。例えば以下のような文献に記載の方法により行うことができる。

[0017]

Wolff ed., Gene therapeutics: Methods and applications of direct genetran sfer. Birkhaeuser, Boston, 1994; Kapli tt and Loewy eds., Viral vectors:Gene therapy and neuroscience apllicatio ns. Academic Press, SanDiego, 1995; Li u et al. eds., DNA vaccines: A new era in vaccinology. Annals of the New Yo rk Academy of Sciences vol. 772. New York Academy of Sciences, New Yor k, 1995; Gluzman and Hughes eds., Vir al vectors: Current communications in molecular biology Cold Spring Harbo r Laboratory, New York, 1988; Roth ed. Methods in cell biology:vol. 43. Pro tein expression in animal cells. Aca demic Press, San Diego 1994.

[0018]

本発明に用いられるウイルスを構成するタンパク質としては、例えば、ウイルスの外表面を構成するタンパク質として、VSV(vesicular stomatitis virus)のGタンパク質、レトロウイルスのエンベロープタンパク質(env)、アデノウイルスのキャプシドタンパク質(ヘキソン、ペントンベース、ファイバー)、インフルエンザウイルスのHemagglutinin、パラミクソウイルスの表面糖タンパク質などが挙げられるが、癌細胞な

どの宿主細胞の表面への吸着や特異的受容体との相互作用を担うようなウイルス タンパク質であれば、いずれも本発明に用いられる。

[0019]

本発明に用いられるMSH受容体に特異的に結合するリガンドとしては、αーMSH、β-MSH、γ-MSH等が挙げられる。またこれらの変異体(誘導体やランダムペプチドからスクリーニングしたものなど)を作成して、天然のMSHよりも一層MSH受容体との結合力の強いものを人工的に作成することも可能である。本発明に用いられるリガンドは、これら全てのMSHないしMSH様のリガンドを包含する。

[0020]

以下の説明においては、MSH受容体に特異的に結合するリガンドをMSHと 略記するが、本発明においては、MSH受容体と強い親和力を有する全てのリガ ンドも同様に用いることができる。

MSHとウイルスタンパク質との結合は、直接結合させることもできるが、リンカーペプチドを介して結合させることもできる。リンカーペプチドついては、長さは1から100残基程度までのオリゴペプチドが用いられる。当該オリゴペプチドの配列としては、文献上報告された特定のペプチド配列でも、未報告のペプチド配列でも、MSH機能を保持しながらウイルスタンパク質とMSHとを結びつけるような役割を果たすペプチドであれば、MSHのC未端、内部あるいはN末端のどちらについているか、長さ、配列などは問わず、いずれでも本発明に用いることができる。

[0021]

MSHがウイルスを構成するタンパク質に結合する位置は、当該タンパク質の C末端、内部またはN末端であっても、いずれの位置であってもよい。例えば、 アデノウイルスのファイバータンパク質のようなウイルスを構成するタンパク質 のC末端に配列番号 25、27、29および31のいずれかに示されるアミノ酸 配列を有するオリゴペプチドを介してMSHのN末端を結合させることができる。 当該配列番号 25、27、29および31のいずれかに示されるアミノ酸配列 を有するリンカーペプチドおよび当該ペプチドをコードするDNAも本発明に包

含される。

[0022]

本発明のペプチドリンカーを介してMSHを結合させたウイルスベクターを構成するタンパク質の具体例としては、配列番号32~39のいずれかに示されるアミノ酸配列を有するタンパク質等が挙げられる。当該タンパク質をコードするDNAも本発明に包含される。具体的には、配列番号7、13および17~23のいずれかに示される塩基配列からなるDNA等が挙げられる。

[0023]

本発明のウイルスベクターに外来の遺伝子を組み込むことにより、当該遺伝子を効率的に標的細胞に導入することができる。当該外来遺伝子を含むウイルスベクターも本発明に包含される。例えば、外来遺伝子として、直接的または間接的に標的細胞に対して細胞毒性作用を有するような分子をコードする遺伝子を組み込むことにより、癌細胞等の標的細胞を効率的かつ選択的に殺すことができる。このような遺伝子としては、例えば、サイトカイン、細胞増殖因子および細胞増殖抑制因子等をコードする遺伝子、腫瘍抑制遺伝子、細胞周期調節遺伝子、細胞死調節遺伝子等が挙げられる。

[0024]

また、外来遺伝子として、単純ヘルペスウイルス・チミジンキナーゼ(HSV - tk)、シトシン・デアミナーゼ(Cytosine deaminase, CD)等の非毒性のプロドラッグを細胞毒性を有する薬剤に変換することができる酵素をコードする遺伝子を組み込むことにより、標的細胞を当該プロドラッグに対して感受性(sensitive)にすることができる。例えば、HSV-tkをコードする遺伝子を組み込んだ場合は、標的細胞をガンシクロビルまたはアシクロビルに対して感受性にすることができ、CDをコードする遺伝子を組み込んだ場合は、標的細胞内で非毒性の5-フルオロシトシンを細胞毒性を有する薬剤である5-フルオロウラシルに変換させることができる。

[0025]

また、外来の遺伝子は、アデノウイルスE1AないしE1Bの野生型または変異型の遺伝子の全部または一部であってもよい。

本発明のウイルスベクターは、医薬、例えば、悪性黒色腫等のMSHを発現している腫瘍の治療薬、特に悪性黒色腫の治療薬として用いることができる。

本発明のウイルスベクターを含有する医薬は、治療薬として該ベクター単独で投与することも可能ではあるが、通常は該ベクターを薬理学的に許容される一つあるいはそれ以上の担体と一緒に混合し、製剤学の技術分野においてよく知られる任意の方法により製造した医薬製剤として提供するのが望ましい。好ましくは水、あるいは食塩、グリシン、グルコース、ヒトアルブミン等の水溶液等の水性担体に溶解した無菌的な溶液が用いられる。また、製剤溶液を生理的条件に近づけるための緩衝化剤や等張化剤のような、薬理学的に許容される添加剤、例えば、酢酸ナトリウム、塩化ナトリウム、乳酸ナトリウム、塩化カリウム、クエン酸ナトリウム等を添加することもできる。また、凍結乾燥して貯蔵し、使用時に適当な溶媒に溶解させて用いることもできる。

[0026]

投与経路は、治療に際し最も効果的なものを使用するのが望ましく、通常は非 経口経路、例えば皮下、筋肉内、静脈内、気道内等の投与経路が用いられる。

本発明のベクターを含有する治療薬は、治療薬として該ベクター単独で投与することも可能ではあるが、通常は薬理学的に許容される一つあるいはそれ以上の担体と一緒に混合し、製剤学の技術分野においてよく知られる任意の方法により製造した医薬製剤として提供するのが望ましい。

[0027]

投与経路は、治療に際して最も効果的なものを使用するのが望ましく、経口投与、または口腔内、気道内、直腸内、皮下、筋肉内および静脈内等の非経口投与をあげることができる。投与形態としては、噴霧剤、カプセル剤、錠剤、顆粒剤、シロップ剤、乳剤、座剤、注射剤、軟膏、テープ剤等があげられる。

経口投与に適当な製剤としては、乳剤、シロップ剤、カプセル剤、錠剤、散剤、顆粒剤等があげられる。例えば乳剤およびシロップ剤のような液体調製物は、水、ショ糖、ソルビトール、果糖等の糖類、ポリエチレングリコール、プロピレングリコール等のグリコール類、ごま油、オリーブ油、大豆油などの油類、pーヒドロキシ安息香酸エステル類等の防腐剤、ストロベリーフレーバー、ペパーミ

ント等のフレーバー類等を添加剤として用いて製造できる。カプセル剤、錠剤、 散剤、顆粒剤等は、乳糖、ブドウ糖、ショ糖、マンニトール等の賦形剤、デンプ ン、アルギン酸ナトリウム等の崩壊剤、ステアリン酸マグネシウム、タルク等の 滑沢剤、ポリビニルアルコール、ヒドロキシプロピルセルロース、ゼラチン等の 結合剤、脂肪酸エステル等の界面活性剤、グリセリン等の可塑剤等を添加剤とし て用いて製造できる。

[0028]

非経口投与に適当な製剤としては、注射剤、座剤、噴霧剤等があげられる。例えば、注射剤は、塩溶液、ブドウ糖溶液、あるいは両者の混合物からなる担体等を用いて調製する。座剤はカカオ脂、水素化脂肪またはカルボン酸等の担体を用いて調製される。また、噴霧剤は該ベクターそのもの、ないしは受容者の口腔および気道粘膜を刺激せず、かつ該ベクターを微細な粒子として分散させ吸収を容易にさせる担体等を用いて調製する。担体として具体的には乳糖、グリセリン等が例示される。該ベクターおよび用いる担体の性質により、エアロゾル、ドライパウダー等の製剤が可能である。また、これらの非経口剤においても経口剤で添加剤として例示した成分を添加することもできる。

[0029]

投与量または投与回数は、目的とする治療効果、投与方法、治療期間、年齢、体重、ウイルスベクターの種類等により異なるが、通常成人1回当たりウイルスベクターとして $10^3\sim10^{15}$ 個である。

本発明のウイルスベクターは、診断薬、例えば、悪性黒色腫等のMSHを発現している腫瘍の診断薬、特に悪性黒色腫の診断薬として用いることができる。例えば、本発明のウイルスベクターに標識となる遺伝子を組み込むことにより、悪性黒色腫等のMSHを発現している腫瘍を特異的に検出することができる。

[0030]

以下、ウイルスベクターとしてヒト5型のアデノウイルス(Ad5)を、MSHを結合させるウイルスを構成するタンパク質としてAd5のファイバーを用いて、本発明を具体的に説明するが、本発明はこれらの例に限定されるものではない。

[0031]

【実施例】

実施例1 MSH融合ファイバー変異型(F/MSH)の変異を持つヒト5型アデノウイルス(以下、Ad5-F/MSHと略記する)の作成

a) F/MSH変異をコードするプラスミドの作成:

野生型のファイバーをコードする遺伝子領域の3、末端に11 アミノ酸よりなるリンカーと13 アミノ酸よりなるヒト α -MSHをコードする塩基配列(配列番号1)を、合成オリゴヌクレオチドNo. 924(126 mer、配列番号2)をテンプレートとし、No. 933(配列番号3)とNo. 934(配列番号4)をプライマーとして、ポリメラーゼ連鎖反応法(po1 ymerase chain reaction、PCR)によって合成した。

[0032]

このPCR産物をEcoRIで切って、pBluescript (ストラタジーン社) のEcoRIサイトヘクローニングしてpSKII+nb MSHを得た (Yoshida et al., 1998)。さらに、pSKI I+nbH (Yoshida et al., 1998) $\mathcal{O}HindIII/X$ hoI断片とpSKII+nbMSHのXhoI/MunI断片を、pSKII + [X-K] (Yoshida et al., 1998) OHindIII/MunIサイトヘクローニングしてプラスミドpSKII+ [X-K] nbMS Hを得た。さらにpSKII+ [X-K] nbMSHのNheI/KpnI断片 (2. 1kbp) &pSKII+6. 7Rnp (Yoshida et al. , 1998) のNheI/KpnIサイトヘサブクローニングして、pSKII +6.7R-MSHを得た。pSKII+6.7R-MSHからEcoRI/P acI断片を切り出してpTR (Yoshida et al., 1998)の EcoRI/PacIサイトヘクローニングしてpTR-MSHを得た。F/MSH変異型のファイバーのC末端の予想アミノ酸配列は以下のようになる。ただ し、数字は5型アデノウイルス(Ad5)のファイバーのN末端を1として数え たアミノ酸残基の位置を示す。

S $_{5\ 7\ 1}$ SYTFSYIAQE $_{5\ 8\ 1}$ PSASASASAPG $_{5\ 9\ 2}$ SYSM

EHFRWGKPV₆₀₅

581までが本来のAd5ファイバーのアミノ酸配列、582から592までの11残基がリンカーのアミノ酸配列、593から605までの13残基がヒトα-MSHのアミノ酸配列である。

pTR-MSHを含む大腸菌であるEscherichia coli DH $5\alpha/pTR-MSH$ は、平成11年2月22日付けで工業技術院生命工学工業技術研究所にFERMBP-6656として寄託されている。

[0033]

b) F/MSH変異型組み換えアデノウイルスの作成

F/MSHを有する組み換えアデノウイルスは、公知の方法(Yoshida a1.,1998)に準じて作成した。すなわち、アデノウイルスAd 5dlX (Miyake et al., Proc. Natl. Acad. Sc i. U. S. A. 93,1320-1324(1996)〕からゲノムDNA-末端タンパク質複合体(以下、DNA-TPCと略記する)を分離し、これをE coRIとAseIで切断したものと、pTR-MSHのプラスミドDNAをP acIで切断したものとを、293細胞へ共トランスフェクションした。Yos hida et al., 1998にF/K20変異体の作成法として記載した 方法と本質的に同じ方法を用いた。ただし従来通りの方法〔Miyake al., Proc. Natl. Acad. Sei. U. S. A. 93, 1320 **-1324(1996)〕に従って共トランスフェクションを行ったところ、繰** り返して実験を行ったにもかかわらず、プラークは1つも得られなかった(Y o <u>s h i d a e t a l . , 1 9 9 8) 。本実施例では、得られた A d v – F / </u> MSH変異体のウイルスタイターがきわめて低いために、従来通りのウイルスプ ラーク作成法を用いてはウイルスの分離は困難と考えた。そこで本発明者は、D NAをトランスフェクトされた293細胞の96ウエルプレートへのまき込み数 を従来法の30%とし、培養液のウシ胎児血清(Fetal bovine erum,FBS)の濃度を従来の10%からその半分の5%へと低くし、培養 液をトランスフェクションから4日目、8日目、15日目の3回それぞれ1ウエ ルに50μ1ずつ適宜追加しながら3週間にわたって培養を続けたところ、よう

やく全体で2クローンのプラークを分離することができた。これらのウイルスを 293 細胞ならびにA375 ヒト悪性黒色腫細胞に感染させて増幅させてから生物活性の検討を行った。得られたAd5-F/MSHのウイルス液のタイターは 通常の293 を用いたプラークアッセイ法では検出限界以下であった(10^5 pfu/m1以下)。

[0034]

c) F/MSHファイバー変異型アデノウイルスの293細胞ならびにA375 ヒト悪性黒色腫細胞に対する感染によって起こる細胞毒性の検討

293細胞またはA375細胞を6ウエルプレートにまき、翌日コントロールの擬似感染(mock infection)、野生型(wt)アデノウイルスAd5d1X-F/wtの感染、ならびに、F/MSH変異型アデノウイルス(Ad5-F/MSH)の感染を行い、96時間後の細胞の形態を位相差顕微鏡で観察した。図1のAにコントロールの293細胞、B、CにそれぞれF/wtとF/MSHのAd5d1Xアデノウイルスに感染した293細胞を示す。4日間の培養でBのF/wtの感染した293細胞はほとんど100%の細胞が死んで丸く浮き上がってくる。一方、CのF/MSHの感染した293細胞では細胞のダメージはほとんど見られずコントロール(A)とほぼ同等の形態を示した。

[0035]

図2のDにコントロールのA375細胞、E、Fが野生型ファイバー(F/wt)のAd5d1XアデノウイルスをそれぞれMOI1110、30で感染させたA375の形態を示す。4日間の培養で、293細胞の結果とは対照的に、F/wtの感染したA375細胞では、十分な細胞毒性は得られていない(図2のE、F)。一方、図3のGはF/MSH変異型ファイバーを有するAd5d1Xアデノウイルス(Ad5-F/MSH)を感染させたA375細胞の形態を示す。4日間の培養で非常に強い細胞毒性が得られることがわかる。

以上の結果から、F/MSHファイバー変異型アデノウイルスは、293細胞に比し、A375ヒト悪性黒色腫細胞に対して効率高く、しかも選択性も優れた遺伝子導入の可能なベクターとして有用であることが示された。

[0036]

実施例2 MSH融合型の変異ファイバーを持つヒト5型アデノウイルスの改 良型(Ad5-F/asMSHa)の作成

実施例1の方法では、F/MSH変異型アデノウイルスの悪性黒色腫細胞に対する顕著な効果、すなわち、高効率の遺伝子導入と強い細胞毒性効果は示されたものの、得られたウイルス液のタイターが低い(10^5 pfu/m1以下)のでこれを改善する必要がある。そこで、以下に述べるようなファイバー変異型アデノウイルス作成方法を用いることによって、 10^7 から 10^8 pfu/m1以上の実用上充分に高いタイターを有するMSH融合ファイバー変異アデノウイルスを得ることができた。

[0037]

a) F/asMSHaファイバー変異をコードするDNA断片の作成

α-MSHのコード領域とファイバーのポリAシグナル領域は、新しく合成したオリゴヌクレオチドプライマーのNo. 1061(配列番号5)とNo. 1092(配列番号6)を用いて、実施例1のpSKII+6.7R-MSHをテンプレートとしてPCR法によって合成した。

PCR産物をBamHI/EcoRIで切断して、pNEB193 (NEB社) のBamHI/EcoRIサイトヘクローニングし、塩基配列を確認した。

[0038]

b) コスミドpWE 6.7R-F/asMSHaの作成

コスミドpWE15 (GenBank accession, M99569)はClontech社 (Palo Alto, CA, USA)から購入した。pSKII+6.7R-K20 (Yoshida et al., Hum. Gene Ther. 9:2503-2515 (1998)の2506ページに記載されている]のSacIIサイトをT4DNAポリメラーゼで平滑化して、ここに新たに合成したリン酸化BstBIリンカー (pdGCTTCGAAGC)を挿入した。これからAd5アデノウイルスのゲノムを含むEcoRI/BstBI断片を切り出し、pWE15のEcoRI/ClaIサイトにクローニングしてpWE6.7R-F/K20を得た。これからK20変異をコードする配列を含むBamHI/KpnI断片をa)で述べたNo.1061-No.1092P

CR産物のBamHI/KpnI断片に入れかえることによってpWE6.7R -F/asMSHaを得た。このときファイバーをコードする領域の塩基配列(Ad5-F/asMSHa.seq)およびコードするアミノ酸配列を配列番号 7に示した。

[0039]

c) コスミドpWEAxKM-F/asMSHaの作成

ファルマシア社から購入したプラスミド p U C - 4 K からカナマイシン耐性遺伝子を含むB a m H I 切断断片(1264 b p)を切り出し、T 4 D N A ポリメラーゼで末端を平滑化して、p A x - c w [Miyake et al., P roc. Natl. Acad. Sci. USA 93, 1320-1324 (1996)]のSwaIサイトにクローニングしてp A x K M を得た。これのA d 5のゲノムを含むE c o R I 断片(約25773 b p)を、b)で述べたp W E 6.7 R - F / a s M S H a の E c o R I サイトにクローニングして、A d 5のゲノムが正しい方向につながっているものを選択することにより、全長約40702 b p のコスミド p W E A x K M - F / a s M S H a を得た。

[0040]

d) F/asMSHa変異型組み換えアデノウイルスの作成

アデノウイルスAd 5 d 1 XのDNA-TPCをEcoRIとAseIで切断したものと、pWEAxKM-F/asMSHaをClaIとPacIで切断したものとを、293細胞へ共トランスフェクションした。実施例1で述べたような細胞培養での工夫をする必要なく、従来通りの培養方法で、多数のプラークを分離することができ、ウイルスゲノムの解析結果からも、予想通りのF/asMSHa変異をもったAd 5 d 1 Xの変異株であることが確認された。実施例1で述べたウイルスと区別するためこれをAd5-F/asMSHaと名付けた。Ad5-F/asMSHaウイルスのストック液のタイターは1.10×10⁸ pfu/m1と、実用上充分に高いタイターが得られた。

[0041]

実施例3 レポーター1 a c Z 遺伝子を発現するF/a s M S H a ファイバー 変異型組み換えアデノウイルスA x C A Z 3 - F/a s M S H a の作成

E1A領域に各種外来性遺伝子の発現力セットを組み込んだF/asMSHaファイバー変異型アデノウイルス作成が可能なことを示すため、まずレポーターとして大腸菌lacZ遺伝子を発現する組み換え体の作成を試みた。

[0042]

Yoshida et al., 1998に記載されたpCAZ2からlac Zを含むAseI断片(末端平滑化)約4889bpを、プロメガ社(Madi son, WI, USA) から購入したpCIプラスミドのBglII/SalI (末端平滑化) サイトヘクローニングして p C A Z 3 を得た。これから B g 1 I I/BamHI断片(末端平滑化)約5153bpを切り出し、コスミドpAx ーcw (Miyake et al., 1996) のSwaIサイトにクローニ ングしてpAxCAZ3を得た。このコスミドDNAと、Ad5dlXのDNA -TPCを用いて野生型ファイバー(F/w t) の組み換えアデノウイルスA× CAZ3-F/wtを得た。これからさらにDNA-TPCを調製し、これをE coRIとAseIで切断したものと、実施例2で得られたWEAxKM-F/ asMSHaコスミドDNAをClaIとPacIで切断したものとを、293 細胞へ共トランスフェクションした。従来通りの培養法で多数のプラークを分離 することができ、ウイルスゲノムの解析結果からも、予想通りのF/asMSH a変異をもち、なおかつ、E1A領域にレポーターlacZ発現カセットをもつ 組換えアデノウイルスであることが確認された。この組換えウイルスをAxCA Z3-F/asMSHaと名付けた。

[0043]

<u>実施例4 MSH受容体(以下、MSHRと略記する)を高発現する宿主細胞</u> を用いた、F/asMSHa変異型アデノウイルスの作成

a) MSHRを発現するレトロウイルスベクターの作成

ヒトのメラノーマ細胞A375の粗RNAから得たcDNAをテンプレートとし、MSHRをコードする領域のN末側半分をプライマーNo.1037(配列番号8)とNo.1040(配列番号11)、C末側半分をプライマーNo.1038(配列番号9)とNo.1039(配列番号10)を用いて増幅(RTーPCR法)し、MSHRのcDNA断片を得た。それぞれのDNA断片をEco

RI/KpnIで切断して、pBluescriptIISK+のEcoRI/KpnIサイトにクローニングしたのち塩基配列を確認した。これから、N末側をEcoRI/KpnI、C末側をKpnI/NotIでそれぞれ切り出して、レトロウイルス作成用のプラスミドのpRx-bsr [Shinoura et al., Human Gene Ther. 9:1983-1993 (1998)]のEcoRI/NotIサイトへ3パート・ライゲーションでクローニングしてプラスミドpRxhMSHRを得た。このプラスミドを用いて文献(濱田洋文ら、レトロウイルスベクター 日本遺伝子治療学会編集:遺伝子治療開発研究ハンドブック 第3章 導入技術、印刷中、エヌ・ティー・エス、1999)に記載の方法を用いてMSH発現レトロウイルス産生細胞のψCRIP/MSHRを樹立した。

[0044]

- b) MSHRを高発現する293宿主細胞由来の細胞株の作成
- ϕ C R I P \angle M S H R の培養上清中のレトロウイルスを293細胞に感染させることによりM S H R を高発現する293 \angle M S H R 細胞株を得た。
- c) 293/MSHRを用いたF/asMSHa変異型アデノウイルスの増幅 通常のアデノウイルス作成の宿主として用いる293細胞の代わりに、293/MSHR細胞を用いてF/asMSHa変異型アデノウイルスのタイターをプラークアッセイ法で測定すると、同一の液をアッセイしているにもかかわらず、293細胞で得られるタイター値に比べて3から10倍高い見かけ上のタイター値が得られた。これは、293細胞を使った場合に比べて293/MSHR細胞を使えばF/asMSHa変異型アデノウイルスの感染効率ならびにプラーク形成率が高まるためと考えられる。つまり、293/MSHR細胞を宿主として用いれば、293細胞を使う場合よりもさらに高いタイターのウイルス液を調製できると考えられる。

[0045]

実施例 5 β - M S H 融合ファイバー変異型の組換えアデノウイルスの作成 実施例 1 から 4 までは、ヒト α - M S H 融合ファイバー変異型アデノウイルス の作成例を示した。さらに、 α - M S H 以外のリガンドに関しても悪性黒色腫細

胞の治療に有用なファイバー変異型ウイルスを作成することが可能かどうかを、 β-MSHをリガンドの一例として用いて検討した。

a) β -MSH融合ファイバータンパク質をコードするプラスミドDNAの作成 β -MSHをコードするPCR用のプライマーNo. 1075を新しく作成した(配列番号12)

No. 1075とNo. 1092 (実施例2に記載)をプライマーとして、pSKII+6. 7RnpをテンプレートとしてPCRを行い、得られたPCR産物をBamHIとEcoRIで切断して、pNEB193のBamHI/EcoRIサイトにクローニングした後、塩基配列を確認した。β-MSHをコードするDNA断片をBamHI/KpnIで切り出し、実施例2で得られたpWE6. 7R-F/asMSHaのBamHI/KpnIサイトにクローニングしてpWE6. 7R-F/asMSHbを得た。さらにこのEcoRIサイトに、pAxKMのEcoRI断片(約25kbp)を順方向にクローニングして、pWEAxKM-F/asMSHbコスミドDNAを得た。

[0046]

b)β-MSH融合ファイバー変異型アデノウイルスの作成

実施例 2 と同様の方法で、A d 5 d 1 XのDNA-TPCとpWEAxKM-F/asMSHbのDNAを2 9 3 細胞に共トランスフェクトすることにより、 β -MSH融合ファイバー変異型アデノウイルスAd 5-F/asMSHbを作成した。多くのプラークが得られ、ウイルスゲノムの解析からも、目的としたF/asMSHb変異ウイルスが得られたことが確認された。

[0047]

さらに実施例3と同様の方法で、 $A \times CAZ3 - F/w + t$ のDNA-TPCと PWEA \times KM-F/a \times SMSHbのDNAを293細胞に共トランスフェクト することにより、大腸菌1ac \times Zレポーター遺伝子発現カセットを持ち、なおかつ、 β -MSH融合ファイバー変異型の組換えアデノウイルスA \times CAZ3-F/a \times SMSHbを作成した。F/a \times SMSHb変異型のファイバーのDNA配列を配列番号13に示した。

[0048]

実施例6 GSリンカーを持つMSH融合ファイバー変異型アデノウイルスの 作成

実施例1から5までは、アデノウイルスのファイバータンパク質のC末端にASリンカー(PSASASASAPG 配列番号25)をはさんでαーMSHないしβーMSHのリガンドのアミノ酸配列が続く構造(βーMSHのリガンドの場合のASリンカーは、C末端にさらにセリン残基が付加されている)をもつ変異型アデノウイルスの作成例を示した。さらにASリンカー以外のリンカーに関しても、悪性黒色腫細胞の治療に有用なファイバー変異型ウイルスを作成することが可能かどうかを、GSリンカー(GSGSGSGSGSG配列番号27;βーMSHのリガンドの場合は、C末端にさらにセリン残基が付加されている)を一つの例として用いて検討した。

a) GSリンカーをコードするプラスミドDNAの作成

GSリンカーをコードするプライマーNo. 1060(61mer 配列番号 14)を新たに合成した。さらにPCR反応を容易にするために、No. 106 0よりも短くコドンの使用も少し異なるプライマーNo. 1098(41mer 配列番号15)を新たに合成した。pSKII+6. 7R-K20をテンプレートとしてさらにNo. 931(Yoshida et al., 1998に記載 配列番号16)とNo. 1060でPCR反応を行い、そのPCR産物をテンプレートとしてさらにNo. 931とNo. 1098でPCR反応を行った。

[0049]

このPCR産物をHindIII/BamHIで切断してpNEB193にクローニングして、塩基配列を確認した。次にpWE6.7RーF/asMSHaとpWE6.7RーF/asMSHbのASリンカーを含むXhoI/BamHIのDNA断片を、GSリンカーを含むXhoI/BamHI DNA断片にそれぞれ入れ替えることにより、pWE6.7RーF/gsMSHaとpWE6.7RーF/gsHSHbを得た。それぞれのコスミドDNAのEcoRIサイトにpAxKMからのEcoRI断片(約25kbp)を順方向でクローニングすることにより、それぞれpWEAxKMーF/gsMSHaとpWEAxKMーF/gsMSHbを得た。

[0050]

b) GSリンカーを有するMSH融合ファイバー変異型アデノウイルスの作成

a) で作成したコスミドを、Ad 5 dl X ないしAx CAZ3-F/wt 由来のDNA-TPCと共トランスフェクトすることにより、GSリンカーを有するMSH融合ファイバー変異型アデノウイルス4種を樹立できた。すなわち、Ad 5-F/gsMSHa,Ad 5-F/gsMSHb,Ax CAZ3-F/gsMSHa,ならびにAx CAZ3-F/gsMSHbである。以上の4種は、ウイルスゲノムの解析結果からも、目的とする変異型アデノウイルスであることが確認された。

F/gsMSHaとF/gsMSHbのファイバーをコードする塩基配列および それがコードするアミノ酸配列をそれぞれ配列番号1.7、1.8に示した。

[0051]

実施例7 K21リンカーを持つMSH融合ファイバー変異型アデノウイルス の作成

実施例1から6までは、ASリンカーないしGSリンカーのような11~12 アミノ酸程度の比較的短いリンカー配列を有する変異型アデノウイルスの作成例を示したが、さらに多数のアミノ酸配列を有するリンカーに関しても悪性黒色腫細胞の治療に有用なファイバー変異型ウイルスを作成することが可能かどうかを、ASリンカー(11アミノ酸)またはGSリンカー(11アミノ酸)に25残基のアミノ酸配列(計37アミノ酸)を加えたリンカーであるasK21リンカー(配列番号29)とgsK21リンカー(配列番号31)を例として用いて検討した。

a) a s K 2 1 リンカーならびに g s K 2 1 リンカーをコードするプラスミド D N A の作成

K21リンカーをコードするプライマーNo. 1089 (128mer 配列番号19)を新たに合成した。No. 1089とNo. 1092のプライマーを用いてpSKII+6. 7RnpをテンプレートにしてPCR反応を行い、PCR産物をEcoRIサイトにクローニングし、塩基配列を確認した。これのK21リンカーをコードする領域であるBglIIからBamHIまでのDNA断片

をpWE6. 7R-F/asMSHa, pWE6. 7R-F/gsMSHa, pWE6. 7R-F/asMSHb, pWE6. 7R-F/gsMSHbのBamHIサイトへ挿入することによって、それぞれpWE6. 7R-F/asK21MSHa, pWE6. 7R-F/asK21MSHa, pWE6. 7R-F/asK21MSHa, pWE6. 7R-F/asK21MSHb, pWE6. 7R-F/gsMSHbのコスミドDNAを得た。これらのK21リンカーを含むファイバーをコードするコスミドのEcoRIサイトに、pAxKMのEcoRI断片(約25kbp)を順方向でクローニングすることにより、それぞれpWEAxKM-F/asK21MSHa, pWEAxKM-F/gsK21MSHa, pWEAxKM-F/asK21MSHb, pWEAxKM-F/gsK21MSHbのコスミドDNAを得た。

[0052]

- b) as K21リンカーならびにgsK21リンカーを有するMSH融合ファイバー変異型アデノウイルスの作成
- a)で作成したコスミドDNAを、Ad5dlXのDNA-TPCと共トランスフェクトすることにより、それぞれAd5-F/asK21MSHa, Ad5-F/gsK21MSHa, Ad5-F/gsK21MSHa, Ad5-F/gsK21MSHb, Ad5-F/gsK21MSHb, Ad5-F/gsK21MSHb, Ad5-F/asK21MSHb, Ad5-F/asK21MSHa、Ad5-F/asK21MSHa、Ad5-F/asK21MSHb、Ad5-F/gsK21MSHa、Ad5-F/asK21MSHb、Ad5-F/gsK21MSHbのファイバーをコードする領域のDNA配列およびコードするアミノ酸配列をそれぞれ配列番号20、21、22、23に示した。また同様にして、AxCAZ3-F/wtのDNA-TPCと共トランスフェクトすることにより、それぞれ、AxCAZ3-F/asK21MSHa、AxCAZ3-F/asK21MSHa、AxCAZ3-F/asK21MSHb、AxCAZ3-F/asK21MShb、AxCAZ3-F/asK21MShb、AxCAZ3-F/asK21MShb、AxCAZ3-F/asK21MShb、AxCAZ3-F/asK21MShb、AxCAZ3-F/asK21MShb、AxCAZ3-F/askazb

[0053]

【発明の効果】

本発明によれば、ウイルスを構成しているタンパク質にMSH受容体に特異的

に結合するリガンドを結合させてなるウイルスベクター、および該ベクターを用いた悪性黒色腫等のMSH受容体を発現している腫瘍に対する診断薬および治療薬を提供することができる。

[0054]

【配列表フリーテキスト】

配列番号1:5型アデノウイルスのファイバーの一部、ASリンカーペプチドおよび $\alpha-MSH$ をコードするDNA

配列番号2:配列番号1のDNAをPCRで増幅させるためのテンプレートとして使用する合成DNA No. 924

配列番号3:配列番号1のDNAをPCRで増幅させるためのセンスプライマーとして使用する合成DNA No. 933

配列番号4:配列番号1のDNAをPCRで増幅させるためのアンチセンスプライマーとして使用する合成DNA No. 934

配列番号 $5: \alpha-MSH$ およびアデノウイルスのファイバーのポリAシグナルをコードするDNAをPCRで増幅させるためのセンスプライマーとして使用する合成DNA No. 1061

配列番号 $6: \alpha-MSH$ およびアデノウイルスのファイバーのポリAシグナルをコードするDNAをPCRで増幅させるためのアンチセンスプライマーとして使用する合成DNA No. 1092

配列番号7:pWE6.7R-F/asMSHaの変異型ファイバータンパク質をコードするDNA

配列番号8:ヒトMSH受容体の1-154残基をコードするDNAをPCRで増幅させるためのセンスプライマーとして使用する合成DNA No. 1037 配列番号9:ヒトMSH受容体の150-317残基をコードするDNAをPC Rで増幅させるためのアンチセンスプライマーとして使用する合成DNA No. 1038

配列番号10:ヒトMSH受容体の150-317残基をコードするDNAをP CRで増幅させるためのセンスプライマーとして使用する合成DNA No. 1 039 配列番号11:ヒトMSH受容体の1-154残基をコードするDNAをPCR で増幅させるためのアンチセンスプライマーとして使用する合成DNA No. 1040

配列番号 $12:\beta-MSH$ およびアデノウイルスのファイバーのポリAシグナルをコードするDNAをPCRで増幅させるためのセンスプライマーとして使用する合成DNAN o. 1075

配列番号13:pWE6. 7R-F/asMSHbの変異型ファイバータンパク 質をコードするDNA

配列番号 14:5型アデノウイルスのファイバーの一部および GS リンカーペプチドをコードする DNA を PCR で増幅させるためのアンチセンスプライマーとして使用する合成 DNA No. 1060

配列番号15:5型アデノウイルスのファイバーの一部およびGSリンカーペプチドをコードするDNAをPCRで増幅させるためのアンチセンスプライマーとして使用する合成DNA No.1098

配列番号16:5型アデノウイルスのファイバーの一部およびGSリンカーペプチドをコードするDNAをPCRで増幅させるためのセンスプライマーとして使用する合成DNA No.931

配列番号17:pWE 6.7R-F/gsMSHaの変異型ファイバータンパク 質をコードするDNA

配列番号18:pWE 6.7R-F/gsMSHbの変異型ファイバータンパク 質をコードするDNA

配列番号19:K21リンカーをコードするDNAをPCRで増幅させるためのセンスプライマーとして使用する合成DNA No. 1089

配列番号20:pWE 6. 7 R - F / a s K 2 1 M S H a の変異型ファイバータ ンパク質をコードするDNA

配列番号21:pWE6.7R-F/gsK21MSHaの変異型ファイバータ ンパク質をコードするDNA

配列番号22:pWE6.7R-F/asK21MSHbの変異型ファイバータンパク質をコードするDNA

配列番号23:pWE6.7R-F/gsK21MSHbの変異型ファイバータ

ンパク質をコードするDNA

配列番号24:ASリンカーをコードするDNA

配列番号25:ASリンカーペプチド

配列番号26:GSリンカーをコードするDNA

配列番号27:GSリンカーペプチド

配列番号28: as K21リンカーをコードするDNA

配列番号29:asK21リンカーペプチド

配列番号30:gsK21リンカーをコードするDNA

配列番号31:gsK21リンカーペプチド

配列番号32:pWE6.7R-F/asMSHaにコードされる変異型ファイ

バータンパク質

配列番号33:pWE6.7R-F/asMSHbにコードされる変異型ファイ

バータンパク質

配列番号34:pWE6.7R-F/gsMSHaにコードされる変異型ファイ

バータンパク質

配列番号35:pWE6.7R-F/gsMSHbにコードされる変異型ファイ

バータンパク質

配列番号36:pWE6.7R-F/asK21MSHaにコードされる変異型

ファイバータンパク質

配列番号37:pWE6.7R-F/gsK21MSHaにコードされる変異型

ファイバータンパク質

配列番号38:pWE6.7R-F/asK21MSHbにコードされる変異型

ファイバータンパク質

配列番号39:pWE6.7R-F/gsK21MSHbにコードされる変異型

ファイバータンパク質

[0055]

【配列表】

SEQUENCE LISTING

<110> Juridical Foundation, Japanese Foundation For Cancer Research

<120> vector for gene therapy of malignamt melanoma, with use of virus h aving MSH fused protein.

<130> H11-0241J2

<160> 39

<170> PatentIn Ver. 2.0

<210> 1

<211> 166

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> DNA coding a part of adenovirus type 5 fiber, AS linker peptide and α -MSH.

gaa Glü

<220>

<221> CDS

<222> (3)..(113)

<400> 1

gg gaa ttc tcg agt tac act ttt tca tac att gcc caa gaa cca tca

47

特平11-093263

Glu Phe Se	r Ser Tyr Thr Pho	e Ser Tyr Ile Ala	Gln Glu Pro Ser	•
1 .	. 5	10	15	
gcc tcc gca te	ct gct tcc gcc co	et gga tee tac tee	atg gag cac tto	95
Ala Ser Ala Se	er Ala Ser Ala Pı	ro Gly Ser Tyr Ser	Met Glu His Phe	•
	20	25	30	
cgc tgg ggc aa	ig ccg gtg taaaga	atcg tttgtgttat g	tttcaacgt	143
Arg Trp Gly Ly	s Pro Val			
	35			
gtttattttt caa	ittgaatt ccc			166
٠.				
<210> 2				
<211> 126		·	·	·
<212> DNA		. •		·
<213> Artifici	al Sequence			
		•	-	
<220>	- DNA N- 004			
	•	d as temprate for	PCR amplification	on of DNA
sequence No.1	• .			
<400> 2				
•	racaac gattottt:	ac accggettge ecca	goggoo gtgotoost	· CO
		es saggetgats stte		•
aaagtg	soovee aguagalgt	<u>sassuisais gill</u>	utgggu datgtatga	120 126
٠ ,	•	•		

<210> 3

<211> 39

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic DNA No.933 used as sense primer for PCR amplification of DNA sequence No.1.

<400> 3

gggaattete gagttacaet tttteataea ttgeeceaag

39

<210> 4

<211> 49

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic DNA No.934 used as antisense primer for PCR amplification of DNA sequence No.1.

<400> 4

gggaattcaa ttgaaaaata aacacgttga aacataacac aaacgattc

49

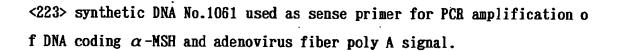
<210> 5

<211> 76

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>



<400> 5

cgggatecta etecatggag caetteeget ggggeaagee ggtgtaagte gacaagaata 60 aagaategtt tgtgtt 76

<210> 6

<211> 32

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic DNA No.1092 used as antisense primer for PCR amplificati on of DNA coding α -MSH and adenovirus fiber poly A signal.

<400> 6

cggaattcat ggcgccatgt ttaatcagag gt

32

<210> 7

<211> 1818

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> DNA coding a modified fiber protein of pWE6.7R-F/asMSHa

<220>

<221> CDS <222> (1)..(1815)

<400> 7

atg aag cgc gca aga ccg tct gaa gat acc ttc aac ccc gtg tat cca

Met Lys Arg Ala Arg Pro Ser Glu Asp Thr Phe Asn Pro Val Tyr Pro

1 5 10 15

tat gac acg gaa acc ggt cct cca act gtg cct ttt ctt act cct ccc 96

Tyr Asp Thr Glu Thr Gly Pro Pro Thr Val Pro Phe Leu Thr Pro Pro

20 25 30

ttt gta tcc ccc aat ggg ttt caa gag agt ccc cct ggg gta ctc tct 144

Phe Val Ser Pro Asn Gly Phe Gln Glu Ser Pro Pro Gly Val Leu Ser

35 40 45

ttg cgc cta tcc gaa cct cta gtt acc tcc aat ggc atg ctt gcg ctc 192 Leu Arg Leu Ser Glu Pro Leu Val Thr Ser Asn Gly Met Leu Ala Leu 50 55 60

aaa atg ggc aac ggc ctc tct ctg gac gag gcc ggc aac ctt acc tcc 240

Lys Met Gly Asn Gly Leu Ser Leu Asp Glu Ala Gly Asn Leu Thr Ser

70 75 80

caa aat gta acc act gtg agc cca cct ctc aaa aaa acc aag tca aac 288
Gln Asn Val Thr Thr Val Ser Pro Pro Leu Lys Lys Thr Lys Ser Asn
85 90 95

ata aac ctg gaa ata tct gca ccc ctc aca gtt acc tca gaa gcc cta 336

Ile Asn Leu Glu Ile Ser Ala Pro Leu Thr Val Thr Ser Glu Ala Leu 100 . 105 110 act gtg gct gcc gcc gca cct cta atg gtc gcg ggc aac aca ctc acc 384 Thr Val Ala Ala Ala Ala Pro Leu Met Val Ala Gly Asn Thr Leu Thr 115 120 125 atg caa tca cag gcc ccg cta acc gtg cac gac tcc aaa ctt agc att 432 Met Gln Ser Gln Ala Pro Leu Thr Val His Asp Ser Lys Leu Ser Ile 130 135 140 gec acc caa gga cec etc aca gtg tea gaa gga aag eta gee etg caa Ala Thr Gln Gly Pro Leu Thr Val Ser Glu Gly Lys Leu Ala Leu Gln 145 150 155 160 aca tea gge eec etc acc acc acc gat age agt acc ett act atc act 528 Thr Ser Gly Pro Leu Thr Thr Thr Asp Ser Ser Thr Leu Thr Ile Thr 165 170 175 gcc tca ccc cct cta act act gcc act ggt agc ttg ggc att gac ttg 576 Ala Ser Pro Pro Leu Thr Thr Ala Thr Gly Ser Leu Gly Ile Asp Leu 180 185 190 ana gag ccc att tat aca caa aat gga aaa cta gga cta aag tac ggg 624 Lys Glu Pro Ile Tyr Thr Gln Asn Gly Lys Leu Gly Leu Lys Tyr Gly 195 200 205 get eet ttg eat gta aca gae gae eta aac act ttg ace gta gea act 672 Ala Pro Leu His Val Thr Asp Asp Leu Asn Thr Leu Thr Val Ala Thr

	210					215	_			٠	220					
aa+		aat	oto	ac+	att	aat	aat	act	tee	t.t.ø	caa	act	ลลล	gtt	act	720 .
														Val		
	Pro	Gly	AST	1111.		АЗЦ	ИОП	1111	961		VIII		цуз		240	
225					230					235					240	:
					.			er er o	aa+	o t æ		ott.	aat	σta	aca	768
														gta		100
G1y	Ala	Leu	Gly		ASP	5er	GID	Gly		nec	UIU	Leu	Non	Val	VIG	•
				245					250	•				255		
																016
			•											gat	•	816
Gly	Gly	Leu	Arg	Ile	Asp	Ser	Gln		Arg	Arg	Leu	ile		Asp	val	
•			260					265					270			•
												•			•	
agt	tat	ccg	ttt	gat	gct	caa	aac	caa	cta	aat	cta	aga	cta	gga	cag	864
Ser	Туг	Pro	Phe	Asp	Ala	Gln	Asn	Gln	Leu	Asn	Leu	Arg	Leu	Gly	Gln	
	-	275					280					285				
					•				•			•				
ggc	cct	ctt	ttt	ata	aac	tca	gcc	cac	aac	ttg	gat	att	aac	tac	aac	912
Gly	Pro	Leu	Phe	ile	Asn	Ser	Ala	His	Asn	Leu	Asp	Ile	. Asn	Tyr	Asn	
	290)				295	j				300				٠	
٠.,					-											
_aaa	_ggc	_ctt	_tac	:_ttg	<u>ttt</u>	_aca	_gct	_tca	aac	aat	tcc	aaa	aag	; ctt	gag	960
															Glu	
305				٠	310			•		315					320	
gt.1	. ลลด	c cta	ເຮືອ	act	t gco	: aas	g ggs	g ttg	g ate	ttt	gac	gc1	t ac	a gc	ata	1008
										•					a Ile	

335

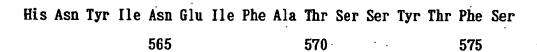
330

gcc	att	aat	gca	gga	gat	ggg	ctt	gaa	ttt	ggt	tca	cct	aat	gca	cca	1056
Ala	Ile	Asn	Ala	Gly	Asp	Gly	Leu	Glu	Phe	Gly	Ser	Pro	Asn	Ala	Pro	
			340					345			•		350		•	
			•											•	·	
aac	aca	aat	ccc	ctc	aaa	aca	aaa	att	ggc	cat	ggc	cta	gaa	ttt	gat	1104
Asn	Thr	Asn	Pro	Leu	Lys	Thr	Lys	Ile	Gly	His	Gly	Leu	Glu	Phe	Asp	
		355				٠.	360					365				
												•				•
tca	aac	aag	gct	atg	gtt	cct	aaa	cta	gga	act	ggc	ctt	agt	ttt	gac	1152
Ser	Asn	Lys	Ala	Met	Val	Pro	Lys	Leu	Gly	Thr	Gly	Leu	Ser	Phe	Asp	
	370					375					380					
								٠	·							
agc	aca	ggt	gcc	ațt	aca	gta	gga	aac	aaa	aat	aat	gat	aag	cta	act	1200
Ser	Thr	Gly	Ala	Ile	Thr	Val	Gly	Asn	Lys	Asn	Asn	Asp	Lys	Leu	Thr	
385					390					395					400	
	•										•					
ttg	tgg	acc	aca	cca	gct	cca	tct	cct	aac	tgt	aga	cta	aat	gca	gag	1248
Leu	Trp	Thr	Thr	Pro	Ala	Pro	Ser	Pro	Asn	Cys	Arg	Leu	Asn	Ala	Glu	
				405					410					415		
•							. ;	•								
aaa	gat	gct	aaa	ctc	act	ttg	gtc	tta	aca	aaa	tgt	ggċ	agt	caa	ata	1296
Lys-	Asp-	Ala_	Lys	Leu	Thr	Leu_	Val	Leu	Thr	Lys	Cys	Gly	Ser	Gln	<u>Ile</u>	
			420					425				٠	430			
	٠													•	•	
ctt	gct	aca	gtt	tca	gtt	ttg	gct	gtt	aaa	ggc	agt	ttg	gct	cca	ata	1344
Leu	Ala	Thr	Val	Ser	Val	Leu	Ala	Val	Lys	Gly	Ser	Leu	Ala	Pro	Ile	
		435			•	•	440	·				44 5.				

tct	gga	aca	gtt	caa	agt	gct	cat	ctt	att	ata	aga	ttt	gac	gaa	aat	1392		
Ser	Gly	Thr	Val	Gln	Ser	Ala	His	Leu	Ile	Ile	Arg	Phe	Asp	Glu	Asn			
	450	-				455		-			460		•	-				
	•			•											-			
gga	gtg	cta	cta	aac	aat	tcc	ttc	ctg	gac	cca	gaa	tat	tgg	aac	ttt	1440		
Gly	Val	Leu	Leu	Asn	Asn	Ser	Phe	Leu	Asp	Pro	Glu	Tyr	Trp	Asn	Phe			
465					470		•			475					480			
•										•		•						
aga	aat	gga	gat	ctt	act	gaa.	ggc	aca	gcc	tat	aca	aac	gct	gtt	gga	1488		
Arg	Asn	Gly	Asp	Leu	Thr	Glu	Gly	Thr	Ala	Tyr	Thr	Asn	Ala	Val	Gly	•		
				485					4 90				ŧ	495				
•													٠					
ttt	atg	cct	aac	cta	tca	gct	tat	cca	aaa	tct	cac	ggt	aaa	act	gcc	1536		
Phe	Met	Pro	Asn	Leu	Ser	Ala	Tyr	Pro	Lys	Ser	His	Gly	Lys	Thr	Ala			
			500					505					510		•			
						.•	-											
aaa	agt	aac	att	gtc	agt	caa	gtt	tac	tta	aac	gga	gac	aaa	act	aaa	1584		
Lys	Ser	Asn	He	Va1	Ser	Gln	Val	Туг	Leu	Asn	Gly	Asp	Lys	Thr	Lys			
		515					520					525	•					
								•			·	-				•		
cct	gta	aca	cta	acc	att	aca	cta	aac	ggt	aca	cag	gaa	aca	gga	gac	1632 ⁻		
Pro	Val	Thr	Leu	Thr	Ile	Thr	Leu	Asn	Gly	Thr	Gln	Glu	Thr	Gly	Asp			
	530					535	-				540						 	
aca	act	cca	agt	gca	tac	tct	atg	tca	ttt	tca	tgg	gac	tgg	tct	ggc	1680		
Thr	Thr	Pro	Ser	Ala	Tyr	Ser	Met	Ser	Phe	Ser	Trp	Asp	Trp	Ser	Gly			
54 5					550		-			55 5					560			

1728

cac aac tac att aat gaa ata ttt gcc acc tcg agt tac act ttt tca



tac att gcc caa gaa cca tca gcc tcc gca tct gct tcc gcc cct gga 1776

Tyr Ile Ala Gln Glu Pro Ser Ala Ser Ala Ser Ala Ser Ala Pro Gly

580 585 590

tcc tac tcc atg gag cac ttc cgc tgg ggc aag ccg gtg taa 1818
Ser Tyr Ser Met Glu His Phe Arg Trp Gly Lys Pro Val
595 600 605

<210> 8

<211> 40

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic DNA No.1037 used as sense primer for PCR amplification of DNA coding human MSH receptor residue 1-154.

<400> 8

gggaattcac catggctgtg cagggatccc agagaagact

40

<210> 9

<211> 33

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic DNA No.1038 used as antisense primer for PCR amplification of DNA coding human MSH receptor residue 150-317.

<400> 9

gggaattcac caggagcatg tcagcacctc ctt

33

<210> 10

<211> 27

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic DNA No.1039 used as sense primer for PCR amplification of DNA coding human MSH receptor residue 150-317.

<400> 10

ctgcggtacc acagcatcgt gaccctg

27

<210> 11

<211> 27

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic DNA No.1040 used as antisense primer for PCR amplification of DNA coding human MSH receptor residue 1-154.

<400> 11

gctgtggtac cgcagtgcgt agaagat

27

<210> 12

<211> 107

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic DNA No.1075 used as sense primer for PCR amplification o f DNA coding β -MSH and adenovirus fiber poly A signal.

<400> 12

cgcggatccg ccgagaagaa ggacgagggc ccctacagga tggagcactt ccgctggggc 60
agcccgccca aggactaagt cgacaagaat aaagaatcgt ttgtgtt 107

<210> 13 -

<211> 1848

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> DNA coding a modified fiber protein of pWE6.7R-F/asMSHb

<220>

<221> CDS

<222> (1)..(1845)

<400> 13

atg aag cgc gca aga ccg tct gaa gat acc ttc aac ccc gtg tat cca

48

Met Lys Arg Ala Arg Pro Ser Glu Asp Thr Phe Asn Pro Val Tyr Pro

1 5 10 15

tat gac acg gaa acc ggt cct cca act gtg cct ttt ctt act ccc 96

Tyr Asp Thr Glu Thr Gly Pro Pro Thr Val Pro Phe Leu Thr Pro Pro

20 25 30

ttt gta tcc ccc aat ggg ttt caa gag agt ccc cct ggg gta ctc tct 144

Phe Val Ser Pro Asn Gly Phe Gln Glu Ser Pro Pro Gly Val Leu Ser

35 40 45

ttg cgc cta tcc gaa cct cta gtt acc tcc aat ggc atg ctt gcg ctc 192
Leu Arg Leu Ser Glu Pro Leu Val Thr Ser Asn Gly Met Leu Ala Leu
50 55 60

aaa atg ggc aac ggc ctc tct ctg gac gag gcc ggc aac ctt acc tcc

Lys Met Gly Asn Gly Leu Ser Leu Asp Glu Ala Gly Asn Leu Thr Ser

65 70 75 80

caa aat gta acc act gtg agc cca cct ctc aaa aaa acc aag tca aac 288
Gln Asn Val Thr Thr Val Ser Pro Pro Leu Lys Lys Thr Lys Ser Asn
85 90 95

ata aac ctg gaa ata tct gca ccc ctc aca gtt acc tca gaa gcc cta 336

Ile Asn Leu Glu Ile Ser Ala Pro Leu Thr Val Thr Ser Glu Ala Leu

			-	10	0				10	5			•	116	0		•
	•																
	act	gte	g gc	t gc	c gc	c gca	ı cct	t cta	a ata	ggto	gce	ggo	aa	aca	a cte	cacc	384
	Thr	· Va	l Ala	a Ala	a Ala	a Ala	ı Pro	Lei	u Met	t Val	l Ala	ı Gly	, Ási	Th	r Lei	u Thr	
			11!	5				120)				125	5 .			
									•			-	•			•	
	atg	caa	tca	a cae	g gcc	c ccg	cta	acc	gte	cac	gac	tcc	888	cti	ago	att	432
																· Ile	
		130					135					140					
												٠					
	gcc	acċ	caa	gga	ccc	ctc	aca	. gtg	tca	. gaa	gga	aag	cta	gcc	cte	caa	480
																Gln	
	145		•			150					155					160	
			-		٠.												
	aca	tca	ggc	ccc	ctc	acc	acc	acc	gat	agc	agt	acc	ctt	act	atc	act.	528
																Thr	
		٠		•	165				٠.	170				•	175		
	gcc	tca	ĊCC	cct	cta	act	act	gcc	act	ggt	agc	ttg	ggc	att	gac	ttg	576
					-											Leu	
				180					185				•	190	•		
	aaa	gag	ccc	att	tat	aca	caa	aat	gga	aaa	cta	gga	cta	aag	tac	ggg	624
_	Lys																
			195				•	200	•	<u> </u>		••	205	_, _	- 		
				•					•								
	gct	cct	ttg	cat	gta	aca	gac	gac	cta	aac	act	tte	acc	gta	gca	act	672
	Ala																
		210			-		215	~F				220	-411	141	uia	1111	٠
												J_V					•

	ggt	cca	ggt	gtg	act	att	aat	aat	act	tcc	ttg	caa	act	aaa	gtt	act	720
	Gly	Pro	Gly	Val	Thr	Ile	Asn	Asn	Thr	Ser	Leu	Gln	Thr	Lys	Val	Thr	
	225					230				•	235	•				240	
		-											•				
	gga	gcc	ttg	ggt	ttt	gat	tca	caa	ggc	aat	atg	caa	ctt	aat	gta	gca	768
	Gly	Ala	Leu	Gly	Phe	Asp	Ser	Gln	Gly	Asn	Met	Gln	Leu	Asn	Val	Ala	٠.
					245					250					255		
									•			-		٠.			
	gga	gga	cta	agg	att	gat	tct	caa	aac	aga	cgc	ctt	ata	ctt	gat	gtt	816
	Gly	Gly	Leu	Arg	Ile	Asp	Ser	Gln	Asn	Arg	Arg	Leu	Ile	Leu	Asp	Val	
				260					265					270			
									•								
	agt	tat	ccg	ttt	gat	gct	caa	aac	caa	cta	aat	cta	aga-	cta	gga	cag	864
	Ser	Tyr	Pro	Phe	Asp	Ála	Gln	Asn	Gln	Leu	Asn	Leu	Arg	Leu	Gly	Gln .	
			275		-			280					285			•	٠
					:					٠						•	
•	ggc	cct	ctt	ttt	ata	aac	tca	gcc	cac	aac	ttg	gat	att	aac	tac	aac	912
	Gly	Pro	Leu	Phe	Ile	Asn	Ser	Ala	His	Asn	Leu	Asp	He	Asn	Tyr	Asn	
		290		•			295					300					
		-								•							
	aaa	ggc	ctt	tac	ttg	ttt	aca	gct	tca	aac	aat	tcc	aaa	aag	ctt	gag	960
	Lys	Gly	Leu	Tyr	Leu	Phe	Thr	Ala	Ser	Asn_	Asn	Ser	Lys	Lys	Leu	Glu	
	305	•				310					315				-	320	
																	• _.
	gtt	aac	cta	agc	act	gcc	aag	ggg	ttg	atg	ttt	gac	gct	aca	gcc	ata	1008
	Val	Asn	Leu	Ser	Thr	Ala	Lys	Gly	Leu	Met	Phe	Asp	Ala	Thr	Ala	Ile	
					325					330					335		

gcc att aat gca gga gat ggg ctt gaa ttt ggt tca cct aat gca cca 1056 Ala Ile Asn Ala Gly Asp Gly Leu Glu Phe Gly Ser Pro Asn Ala Pro 340 345 350 aac aca aat ccc ctc aaa aca aaa atl ggc cat ggc cta gaa ttt gat 1104. Asn Thr Asn Pro Leu Lys Thr Lys Ile Gly His Gly Leu Glu Phe Asp 355 360 365 tea aac aag get atg gtt eet aaa eta gga act gge ett agt ttt gae 1152 Ser Asn Lys Ala Met Val Pro Lys Leu Gly Thr Gly Leu Ser Phe Asp 370 375 380 agc aca ggt gcc att aca gta gga aac aaa aat aat gat aag cta act 1200 Ser Thr Gly Ala Ile Thr Val Gly Asn Lys Asn Asn Asp Lys Leu Thr 385 390 395 400 ttg tgg acc aca cca gct cca tct cct aac tgt aga cta aat gca gag 1248 Leu Trp Thr Thr Pro Ala Pro Ser Pro Asn Cys Arg Leu Asn Ala Glu 405 410 415 aaa gat gct aaa ctc act ttg gtc tta aca aaa tgt ggc agt caa ata 1296 Lys Asp Ala Lys Leu Thr Leu Val Leu Thr Lys Cys Gly Ser Gln Ile 420 425 430 ctt gct aca gtt tca gtt ttg gct gtt aaa ggc agt ttg gct cca ata 1344

ctt gct aca gtt tca gtt ttg gct gtt aaa ggc agt ttg gct cca ata 1344
Leu Ala Thr Val Ser Val Leu Ala Val Lys Gly Ser Leu Ala Pro Ile
435 440 445

tet gga aca gtt caa agt get eat ett att ata aga ttt gae gaa aat 139

Ser Gly Thr Val Gln Ser Ala His Leu Ile Ile Arg Phe Asp Glu Asn gga gtg cta cta aac aat tee tte etg gae eea gaa tat tgg aac ttt Gly Val Leu Leu Asn Asn Ser Phe Leu Asp Pro Glu Tyr Trp Asn Phe aga aat gga gat ett act gaa gge aca gee tat aca aac get gtt gga Arg Asn Gly Asp Leu Thr Glu Gly Thr Ala Tyr Thr Asn Ala Val Gly ttt atg cet aac eta tea get tat eea aaa tet eac ggt aaa act gee Phe Met Pro Asn Leu Ser Ala Tyr Pro Lys Ser His Gly Lys Thr Ala aaa agt aac att gtc agt caa gtt tac tta aac gga gac aaa act aaa Lys Ser Asn Ile Val Ser Gln Val Tyr Leu Asn Gly Asp Lys Thr Lys cct gta aca cta acc att aca cta aac ggt aca cag gaa aca gga gac Pro Val Thr Leu Thr Ile Thr Leu Asn Gly Thr Gln Glu Thr Gly Asp . aca act cca agt gca tac tct atg tca ttt tca tgg gac tgg tct ggc Thr Thr Pro Ser Ala Tyr Ser Met Ser Phe Ser Trp Asp Trp Ser Gly

cac aac tac att aat gaa ata ttt gcc acc tcg agt tac act ttt tca

His Asn Tyr Ile Asn Glu Ile Phe Ala Thr Ser Ser Tyr Thr Phe Ser

565

570

575

tac att gcc caa gaa cca tca gcc tcc gca tct gct tcc gcc cct gga 1776

Tyr Ile Ala Gln Glu Pro Ser Ala Ser Ala Ser Ala Ser Ala Pro Gly

580 585 590

tcc gcc gag aag aag gac gag ggc ccc tac agg atg gag cac ttc cgc 1824
Ser Ala Glu Lys Lys Asp Glu Gly Pro Tyr Arg Met Glu His Phe Arg
595 600 605

tgg ggc agc ccg ccc aag gac taa 1848
Trp Gly Ser Pro Pro Lys Asp
610 615

<210> 14

<211> 61

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic DNA No. 1060 used as antisense primer for PCR amplificati on of DNA coding a part of adenovirus type 5 fiber and GS linker peptide

<400> 14

cgggatccag atccagaacc actaccactt ccagaacctt cttgggcaat gtatgaaaaa

60

g

<210> 15

<211> 41

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic DNA No.1098 used as antisense primer for PCR amplificati on of DNA coding a part of adenovirus type 5 fiber and GS linker peptide

<400> 15

cgtgtggatc cgctgccaga accactacca cttccagaac c

41

<210> 16

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic DNA No.931 used as sense primer for PCR amplification of DNA coding a part of adenovirus type 5 fiber and GS linker peptide.

<400> 16

ggcctttact tgtttacagc

20

<210> 17

<211> 1818

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> DNA coding a modified fiber protein of pWE6.7R-F/gsMSHa

<220>

<221> CDS

<222> (1)..(1815)

<400> 17

atg aag cgc gca aga ccg tct gaa gat acc ttc aac ccc gtg tat cca 48
Met Lys Arg Ala Arg Pro Ser Glu Asp Thr Phe Asn Pro Val Tyr Pro

1 5 10 15

tat gac acg gaa acc ggt cct cca act gtg cct ttt ctt act cct ccc

96

Tyr Asp Thr Glu Thr Gly Pro Pro Thr Val Pro Phe Leu Thr Pro Pro

20 25 30

ttt gta tcc ccc aat ggg ttt caa gag agt ccc cct ggg gta ctc tct 144 Phe Val Ser Pro Asn Gly Phe Gln Glu Ser Pro Pro Gly Val Leu Ser

35 40 45

ttg cgc cta tcc gaa cct cta gtt acc tcc aat ggc atg ctt gcg ctc 192 Leu Arg Leu Ser Glu Pro Leu Val Thr Ser Asn Gly Met Leu Ala Leu 50 55 60

aaa atg ggc aac ggc ctc tct ctg gac gag gcc ggc aac ctt acc tcc 240

Lys 65	Met	G1y	Asn	Gly	Leu 70	•	Leu	ı Asp	Glu	Ala - 75	٠	Asn	Leu	Thr	Ser 80				
			acc													288			
Gln	Asn	Val	Thr	Thr 85		Ser	Pro	Pro	Leu 90		Lys	Thr	Lys	Ser 95	Asn				
																336			
Ile	Asn	Leu	Glu 100	Ile	Ser	Ala	Pro	Leu 105	Thr	Val	Thr	Ser	Glu 110	•	Leu				
			gcc												•	384			
Thr	Val	Ala 115	Ala	Ala	Ala	Pro	Leu 120	Met	Val	Ala	Gly	Asn 125	Thr	Leu	Thr [.]				
			cag													432			
Met	61n 130	Ser	Gln	Ala	Pro	Leu 135	Thr	Val	His	Asp	Ser 140	Lys	Leu	Ser	Ile				
gcc		_														480			
Ala 145	Inr	GIN	GIY		Leu 150	Thr	Val	Ser		Gly 155	Lys	Leu	Ala.	Leu ·	Gln 160		-	٠	٠.
aca													·-			528			
Thr	oer	пīЛ		Leu 165	ınr	IDř	Inr		Ser 170	ser	Thr	Leu		11e 175	Thr				

gcc tca ccc cct cta act act gcc act ggt agc ttg ggc att gac ttg

Ala Ser Pro Pro Leu Thr Thr Ala Thr Gly Ser Leu Gly Ile Asp Leu

-	-
- 1	\boldsymbol{v}
_	

185

										•				•
aaa gag	ccc a	tt tat	aca c	aa aa	t gga	aaa	cta	a gg	a cta	a aa	g ta	c ggg	624	
Lys Glu	Pro I	ie Tyr	Thr G	ln As	n Gly	Lys	Leu	ı G 13	y Lei	ı Ly:	s Ty :	r Gly		
	195			20		٠			205					. ,
														•
gct cct	ttg ca	it gta	aca ga	ac gao	cta	aac	act	tte	acc	gta	L gca	act	672	
Ala Pro														
210			21					220					··.	
ggt cca	ggt gt	g act	att aa	t aat	act	tec	ttg	caa	act	aaa	gtt	act	720	
Gly Pro														
225		•	230	÷,	•		235					240		
		٠					•				-			
gga gcc 1	ttg ggt	ttt g	gat tea	a caa	ggc-	aat	atg	caa	ctt	aat	gta	gca	768	
Gly Ala I														
		245				250					255			
				-			-							
gga gga c	ta agg	att g	at tet	caa	aac a	aga o	ege (ctt	ata	ctt	gat	gtt	816	
Gly Gly L														
	260				265					270				
									٠					
agt tat co	cg ttt	gat g	ct caa	aac	caa c	ta a	at c	ta a	aga (eta (gga	cag	864	
Ser Tyr Pi														•
27				280					285		-			
·						-								
ggc cct ct	t ttt	ata aa	c tca	gcc c	ac a	ac t	tg g	at a	tt a	ac t	ac a	ac	912	
Gly Pro Le														
290			295					00						

•	aaa	gg	c ct	t t	ac t	tg 1	ttt	aca	gct	tca	aac	aat	tc	aaa	aag	ctt	gag	960	•
	Lys	Gl	y Le	u T	yr L	eu F	Phe	Thr	Ala	Ser	Asn	Ası	Ser	Lys	L y s	Leu	Glu		
	305	5 .				3	310	-				315	i				320	•	
												-							
	gtt	aac	ct	a ag	c ac	t g	cc	aag	ggg	ttg	atg	ttt	gac	gct	aca	gcc	ata	1008	
	Val	Ası	ı Le	u Se	r Th	r A	la	Lys	Gly	Leu	Met	Phe	Asp	Ala	Thr	Ala	Ile		
					32	5					330	•			•	335			
						. •											·		
	gcc	att	aa	t gc	a gg	a g	at	ggg	ctt	gaa	ttt	ggt	tca	cct	aat	gca	cca	1056	
	Ala	Ile	Asi	a Al	a Gl	уA	sp	Gľy	Leu	Glu	Phe	Gly	Ser	Pro	Asn	Ala	Pro		
	•			34				• •		345					350			•	
											•								
;	aac	aca	aat	cc	c ct	c a	aa	aca	aaa	att	ggc	cat	ggc	cta	gaa	ttt	gat	1104	
ı	Asn	Thr	Asr	Pr	o Le	u. L	ys '	Thr	Lys	Ile	Gly	His	Gly	Leu	Glu	Phe	Asp		
			355	,					360					365					
																		-	•
1	tca	aac	aag	gc	t at	g gt	tt :	cct	aaa	cta	gga	act	ggc	ctt	agt	ttt	gac	1152	
8	Ser	Asn	Lys	Ala	a Me	t Va	al I	Pro	Lys	Leu	Gly	Thr	Gly	Leu	Ser	Phe	Asp		-
		370						375					380				•		
a	gc	aca	ggt	gco	at	ac	ea g	gta	gga	aac	aaa	aat]	aat	gat	aag	cta	act	1200	
_2	er	Thr	Gly	Ála	ΙĮΙ	Th	r 1	Val	Gly	Asn	Lys	Asn	Asn	Asp	Lys	Leu	Thr	•	
3	85					39	90					395					400		
			•														•		
t	tg	tgg	acc	aca	cca	gc	t c	ca	tct	cct	aac	tgt	aga	cta	aat	gca	gag	1248	
L	eu	Trp	Thr	Thr	Pro	Al	a F	ro i	Ser	Pro	Asn	Cys	Arg	Leù	Asn	Ala	Glu		£
			•		405	•		-			410		•			415			

aaa gat get aaa ete aet ttg gte tta aca aaa tgt gge agt caa ata Lys Asp Ala Lys Leu Thr Leu Val Leu Thr Lys Cys Gly Ser Gln Ile ctt gct aca gtt tca gtt ttg gct gtt aaa ggc agt ttg gct cca ata Leu Ala Thr Val Ser Val Leu Ala Val Lys Gly Ser Leu Ala Pro Ile tct gga aca gtt caa agt gct cat ctt att ata aga ttt gac gaa aat Ser Gly Thr Val Gln Ser Ala His Leu Ile Ile Arg Phe Asp Glu Asn gga gtg cta cta aac aat tcc ttc ctg gac cca gaa tat tgg aac ttt Gly Val Leu Leu Asn Asn Ser Phe Leu Asp Pro Glu Tyr Trp Asn Phe aga aat gga gat ctt act gaa ggc aca gcc tat aca aac gct gtt gga Arg Asn Gly Asp Leu Thr Glu Gly Thr Ala Tyr Thr Asn Ala Val Gly ttt atg cct aac cta tca gct tat cca aaa tct cac ggt aaa act gcc Phe Met Pro Asn Leu Ser Ala Tyr Pro Lys Ser His Gly Lys Thr Ala 5.05 aaa agt aac att gtc agt caa gtt tac tta aac gga gac aaa act aaa Lys Ser Asn Ile Val Ser Gln Val Tyr Leu Asn Gly Asp Lys Thr Lys

cct gta aca cta acc att aca cta aac ggt aca cag gaa aca gga gac

Pro Val Thr Leu Thr Ile Thr Leu Asn Gly Thr Gln Glu Thr Gly Asp
530 535 540

aca act cca agt gca tac tct atg tca ttt tca tgg gac tgg tct ggc 1680

Thr Thr Pro Ser Ala Tyr Ser Met Ser Phe Ser Trp Asp Trp Ser Gly

545 550 555 560

cac aac tac att aat gaa ata ttt gcc acc tcg agt tac act ttt tca 1728 His Asn Tyr Ile Asn Glu Ile Phe Ala Thr Ser Ser Tyr Thr Phc Ser 565 570 575

tac att gcc caa gaa ggt tct gga agt ggt agt ggt tct ggc agc gga 1776

Tyr Ile Ala Gln Glu Gly Ser Gly Ser Gly Ser Gly Ser Gly Ser Gly 580

585

590

tcc tac tcc atg gag cac ttc cgc tgg ggc aag ccg gtg taa

1818

Ser Tyr Ser Met Glu His Phe Arg Trp Gly Lys Pro Val

595

600

605

<210> 18

<211> 1848

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> DNA coding a modified fiber protein of pWE6.7R-F/gsMSHb

<220>

<221> CDS <222> (1)..(1845)

<400> 18

atg aag cgc gca aga ccg tct gaa gat acc ttc aac ccc gtg tat cca 48

Met Lys Arg Ala Arg Pro Ser Glu Asp Thr Phe Asn Pro Val Tyr Pro

1 5 10 15

tat gac acg gaa acc ggt cct cca act gtg cct ttt ctt act cct ccc 96

Tyr Asp Thr Glu Thr Gly Pro Pro Thr Val Pro Phe Leu Thr Pro Pro
20 25 30

ttt gta tcc ccc aat ggg ttt caa gag agt ccc cct ggg gta ctc tct 144
Phe Val Ser Pro Asn Gly Phe Gln Glu Ser Pro Pro Gly Val Leu Ser
35 40 45

ttg cgc cta tcc gaa cct cta gtt acc tcc aat ggc atg ctt gcg ctc 192
Leu Arg Leu Ser Glu Pro Leu Val Thr Ser Asn Gly Met Leu Ala Leu
50 55 60

aaa atg ggc aac ggc ctc tct ctg gac gag gcc ggc aac ctt acc tcc 240

Lys Met Gly Asn Gly Leu Ser Leu Asp Glu Ala Gly Asn Leu Thr Ser

65 70 75 80

caa aat gta acc act gtg agc cca cct ctc aaa aaa acc aag tca aac 288
Gln Asn Val Thr Thr Val Ser Pro Pro Leu Lys Lys Thr Lys Ser Asn
85 90 95

ata aac ctg gaa ata tct gca ccc ctc aca gtt acc tca gaa gcc cta 336

Ile	Asn	Leu	Glu	Ile	Ser	Ala	Pró	Leu	Thr	Val:	Thr	Ser	Glu	Ala	Leu		
			100					105				٠.	110				
													•		•		
act	gtg	gct	gcc	gcc	gca	cct	cta	alg	gtc	gcg	ggc	aac	aca	ctc	acc	384	
Thr	Val	Ala	'Ala	Ala	Ala	Pro	Leu	Met	Val	Ala	Gly	Asn	Thr	Leu	Thr		
		1.15					120					125					
									٠								
atg	caa	tca	cag	gcc	ccg	cta	acc	gtg	cac	gac	tcc	aaa	ctt	agc	att	432	
Met	Gln	Ser	Gln	Ala	Pro	Leu	Thr	Val	His	Asp	Ser	Lys	Leu	Ser	lle		
	130	:				135					140						
						•					•						
gcc	acc	caa	gga	ССС	ctc	aca	gtg	tca	gaa	gga	aag	cta	gcc	ctg	caa	480	
Ala	. Thr	Gln	Gly	Pro	Leu	Thr	Val	Ser	Glu	Gly	Lys	Leu	Ala	Leu	Gln		
145					150			•	-	155				·	160		
				·													
aca	tca	ggc	ccc	ctc	acc	acc	acc	gat	agc	agt	acc	ctt	act	atc	act	528	
Thr	Ser	Gly	Pro	Leu	Thr	Thr	Thr	Asp	Ser	Ser	Thr	Leu	Thr	Ile	Thr		
	•			165					170					175			•
-							•										
gcc	tca	ccc	cct	cta	act	act	gcc	act	ggt	agc	ttg	ggċ	att	gac	ttg	576	
Ala	Ser	Pro	Pro	Leu	Thr	Thr	Ala	Thr	Gly	Ser	Leu	Gly	Ile	Asp	Leu		
		•	180		-			185				•	190			:	•
				-				···					-	-			
aaa	gag	ccc	att	tat	aca	caa	aat	gga	aaa	cta	gga	cta	aag	tac	ggg	624	
Lys	Glu	Pro	Ile	Туг	Thr	Gln	Asn	Gly	Lys	Leu	Gly	Leu	Lys	Tyr	Gly.		
		195				-	200					205					
						•					•		•			•	
gct	cct	ttg	cat	gta	aca	gac	gac	cta	aac	act	ttg	acc	gta	gca	act	672	
	Pro						-										

•	21	U					21	5				22	0				
gg	t cc	a g	gt	gtį	g ac	t at	t aa	t aa	t ac	t tec	c tt	g caa	a ac	t aa	a gt	t act	720
						•										l Thr	
22						23			•		235			-		240	
							•					•			٠	•	
gga	a gc	c t	tg	ggt	tti	t ga	t tea	a caa	a gge	e aat	ate	caa	cti	aat	t gta	a gca	768
Gly	/ Ala	a Lo	eu	Gly	Phe	Asj	e Sei	r Glı	n Gly	y Ası	Met	Glr	Let	l Asi	va]	l Ala	
				•	245	j				250)				255	j	
-					•								٠				
																gtt	816
Gly	Gly	Le				Asp	Ser	Glo	ASD	Arg	Arg	Leu	Ile	Leu	Asp	Val	
				260					265					270	l		
90t	tat	.00		+++	go t					_4.		•					
							•									cag	864
	-7.	27			пор	AIG	. UIII	280		Leu	ASII	Leu	285	reu	'at À	Gln	
											•		200				
ggc	cct	ct	t ·	ttt	ata	aac	tca	gcc	cac	aac	ttg	gat	att	aac	tac	aac	912
											•					Asn -	
	290						295					300					
																	•
aaa_	ggc	ct	t_1	tac_	ttg	ttt	_aca_	gct	tca	aac	aat	tcc	aaa	aag	ctt	gag	960
Ĺys	Gly	Lei	1	lyr	Leu	Phe	Thr	Ala	Ser	Asn	Asn	Ser	Lys	Lys	Leu	Glu	
305					•	310		•			315					320	
												•				٠	
										atg							1008
/a.i	Asn	Leu	ı S			Ala	Lys	Gly	Leu	Met	Phe	Asp	Ala	Thr	Ala	Ile	
•	•				325			•	٠	330	•				335		

gcc	att	aat	gca	gga	gat	ggg	ctt	gaa	ttt	ggt	tca	cct	aat	gca	cca	1056
Ala	Ile	Asn	Ala	Gly	Asp	Gly	Leu	Glu	Phe	Gly	Ser	Pro	Asn	Ala	Pro	
			340					345					350			
											-			•		
aac	aca	aat	ccc	ctc	aaa	aca	aaa	att	ggc	cat	ggc	cta	gaa	ttt	gat	1104
Asn	Thr	Asn	Pro	Leu	Lys	Thr	Lys	Ile	Gly	His	Gly	Leu	Glu	Phe	Asp	•
		355	•				360		•			365		-	•	
																•
tca	aac	aag	gct	atg	gtt	\mathbf{cct}	aaa	cta	gga	act	ggc	ctt	agt	ttt	gac	1152
Ser	Asn	Lys	Ala	Met	Val	Pro	Lys	Leu	Gly	Thr	Gly	Leu	Ser	Phe	Asp	
	370					375			·		380					
			•													
agc	aca	ggt	gcc	att	aca	gta	gga	aac	aaa	aat	aat	gat	aag	cta	act	1200·
Ser	Thr	Gly	Ala	<u>I</u> le	Thr	Val	Gly	Asn	Lys	Asn	Asn	Asp	Lys	Lęu	Thr	
385					390					395	-				400	
			-									-				
ttg	tgg	acc	aca	cca	gct	cca	tct	cct	aac	tgt	aga	cta	aat	gca	gag	1248
Leu	Trp	Thr	Thr	Pro	Ala	Pro	Ser	Pro	Asņ	Cys	Arg	Leu	Asn	Ala	Glu	
				405			•		410			÷		415		
aaa	gat	gct	aaa	ctc	act	ttg	gtc	tta	aca	aaa	tgt	ggc	aġt	caa	ata	1296
 Lys	Asp	Ala	Lys	Leu	Thr	Leu	Val	Leu	Thr	Lys	Cys	Gly	Ser	Gln	Ile	
			420					425					430			
						-							-			
ctt	gct	aca	gtt	tca	gtt	ttg	gct	gtt	aaa	ggc	agt	ttg	gct	cca	ata	1344
Leu	Ala	Thr	Val	Ser	Val	Leu	Ala	Val	Lys	Gly	Ser	Leu	Ala	Pro	Ile	
		435					440					445				

tct	t gge	aca	gti	caa	agt	gct	cat	ctt	att	ata	aga	ttt	gac	gaa	aat	1392
Se	Gly	Thr	Va]	Gln	Ser	Ala	His	Leu	lle	Ile	Arg	Phe	Asp	Glu	Asn	
•	.450	}	•		•	455	•	•			.460			•	è	
														-		
gga	ı gtg	cta	cta	aac	aat	tcc	ttc	ctg	gac	cca	gaa	tat	tgg	aac	ttt	1440
Gly	v Val	Leu	Leu	Asn	Asn	Ser	Phe	Leu	Asp	Pro	Glu	Туг	Trp	Asn	Phe	
465	j				470					475		•			480	
													•		٠	
aga	aat	gga	gat	ctt	act	gaa	ggc	aca	gcc	tat	aca	aac	gct	gtt	gga	1488
							Gly									
				485					490					49 5		
					٠.		٠				٠					
ttt	atg	cct	aac	cta	tca	gct	tat	cca	aaa	tct	cac	ggt	aaa	act	gcc	1536
							Tyr								_	
			500				-	505	-			•	510		٠	
			•													
aaa	agt	aac	att	gtc	agt	caa	gtt	tac	tta	aac	gga	gac	aaa	act	aaa	1584
							Val					_				
		515		•		•	520	-			-	525	-		•	
						٠	•	••								
cct	gta	aca	cta	acc	att	aca	cta	aac	ggt	aca	cag.	gaa	aca	gga	gac	1632
							Leu				_	_				
··.	530					535			•		540					
•							-									•
aca	act	cca	agt	gca	tac	tct	atg	tca	ttt.	tca	tgg	gac	tgg	tet	ggc	1680
•						•	Met									1000
545					550	~~.	-200	501	- 40	555	P	·iop	-÷ P	JUL .	560	
J.3															900	

1728

cac aac tac att aat gaa ata ttt gcc acc tcg agt tac act ttt tca

His Asn Tyr Ile Asn Glu Ile Phe Ala Thr Ser Ser Tyr Thr Phe Ser

565 570 575

tac att gcc caa gaa ggt tct gga agt ggt agt ggt tct ggc agc gga 1776

Tyr Ile Ala Gln Glu Gly Ser Gly Ser Gly Ser Gly Ser Gly Ser Gly 580 585 590

tcc gcc gag aag aag gac gag ggc ccc tac agg atg gag cac ttc cgc 1824 Ser Ala Glu Lys Lys Asp Glu Gly Pro Tyr Arg Met Glu His Phe Arg 595 600 605

tgg ggc agc ccg ccc aag gac taa 1848

Trp Gly Ser Pro Pro Lys Asp
610 615

<210> 19

<211> 128

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic DNA No.1089 used as sense primer for PCR amplification of DNA coding K21 linker peptide.

<400> 19

<210> 20

<211> 1893

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> DNA coding a modified fiber protein of pWE6.7R-F/asK21MSHa

<220>

<221> CDS

<222> (1)..(1890)

<400> 20

atg aag cgc gca aga ccg tct gaa gat acc ttc aac ccc gtg tat cca 48

Met Lys Arg Ala Arg Pro Ser Glu Asp Thr Phe Asn Pro Val Tyr Pro

1 5 10 15

tat gac acg gaa acc ggt cct cca act gtg cct ttt ctt act cct cce 96

Tyr Asp Thr Glu Thr Gly Pro Pro Thr Val Pro Phe Leu Thr Pro Pro

20 25 30

Phe Val Ser Pro Asn Gly Phe Gln Glu Ser Pro Pro Gly Val Leu Ser

35

40

45

ttg cgc cta tcc gaa cct cta gtt acc tcc aat ggc atg ctt gcg ctc 192 Leu Arg Leu Ser Glu Pro Leu Val Thr Ser Asn Gly Met Leu Ala Leu

60

50 55 .

aaa	atg	ggċ	aac	ggc	ctc	tct	ctg	gac	gag	gcc	ggc	aac	ctt	acc	tcc	240
. Lys	Met	Gly	Asn	Gly	Leu	Ser	Leu	Asp	Glu	Ala	Gly	Asn	Leu	Thr	Ser	
65				-	70					7 5			٠		80	
				•												
caa	aat	gta	acc	act	gtg	agc	cca	cct	ctc	aaa	aaa	acc	aag	tca	aac	288
Gln	Asn	Val	Thr	Thr	Val	Ser	Pro	Pro	Leu	Lys	Lys	Thr	Lys	Ser	Asn	٠
				85					90					95		
:													•		•	
ala	aac	ctg	gaa	ata	tct	gca	ссс	ctc	aca	gtt	acc	tca	gaa	gcc	cta	336
Ile	Asn	Leu	Glu	Ile	Ser	Ala	Pro	Leu	Thr	Val	Thr	Ser	Glu	Ala	Leu	
			100			٠		105					110			
			÷						•							
act	gtg	gct	gcc	gcc	gca	cct	cta	atg	gtc	gcg	ggc	aac	aca	ctc	acc	384
Thr	Val	Ala	Ala	Ala	Ala	Pro	Leu	Met	Val	Ala	Gly	Asn	Thr	Leu	Thr	
		115					120	•			•	125	•			
•				•												
atg	caa	tċa	cag	gcc	ccg	cta	acc	gtg	cac	gac	tcc	aaa	ctt	agc	att	432
Met	Gln	Ser	Gln	Ala	Pro	Leu	Thr	Val	His	Asp	Ser	Lys	Leu	Ser	Ile	
	130					135					140					
											_			_		
gcc	acc	caa	gga	ccc	ctc	aca	gtg	tca	gaa	gga	aag	cta	gcc	ctg	caa	480
Ala	Thr	Gln	Gly	Pro							Lys	Leu	Ala	Leu	Gln	
145					150					. 155					160	
•												÷				
aca	tca	ggc	ccc	ctc	acc	acc	acc	gat	agc	agt	acc	ctt	act	atc	act	528
	Ser										•					
													_			

175 -

170

gcc	tca	ccc	cct	cta	act	act	gcc	act	ggt	agc	ttg	ggc	att	gac	ttg	576
Ala	Ser	Pro	Pro	Leu	Thr	Thr	Ala	Thr	Gly	Ser	Leu	Gly	Ile	Asp	Leu	
	•		180	-	•		•	185					190			
	•				٠.											
aaa	gag	ccc	att	tat	aca	caa	aat	gga	aaa	cta	gga	cta	aag	tac	ggg	624
Lys	Glu	Pro	Ile	Tyr	Thr	Gln	Asn	Gly	Lys	Leu	Gly	Leu	Lys	Tyr	Gly	
		195				•	200					205				
	•	•	•													
gct	cct	ttg	cat	gta	aca	gac	gac	cta	aac	act	ttg	acc	gta	gca	act	672
Ala	Pro	Leu	His	Val	Thr	Asp	Asp	Leu	Asn	Thr	Leu	Thr	Val	Ala	Thr	
	210					215			٠		220				÷	
		•		-					•							
ggt	cca	ggt	gtg	act	att	aat	aat	act	tcc	ttg	caa	act	aaa	gtt	act	720
Gly	Pro	Gly	Val-	Thr	Ile	Asn	Asn	Thr	Ser	Leu	Gln	Thr	Lys	Val	Thr	
225		`			230		•			235					240	•
				-									-			
gga	gcc	ttg	ggt	ttt	gat	tca	caa	ggc	aat	atg	caa	ctt	aat	gta	gca	768
Gly	Ala	Leu	Gly	Phe	Asp	Ser	Gln	Gly	Asn	Met	Gln	Leu	Asn	Val	Ala	·
				245					250					255		
					_							٠	•			
gga	gga	cta	agg	att	gat	tct	caa	aac	aga	cgc	ctt	ata	ctt	gat	gtt	816
Gly	Gly	Leu	Arg	Ile	Asp	Ser	Gln	Asn	Arg	Arg	Leu	Ile	Leu	Asp	Val	
			260					265					270			
	٠							•								
agt	tat	ccg	ttt	gat	gct	caa	aac	caa	cta	aat	cta	aga	cta	gga	cag	864
Ser	Tyr	Pro	Phe	Asp	Ala	Gln	Asn	Gln	Leu	Asn	Leu	Arg	Leu	Gly	Gln	
		275				-	280					285				

gg	c	cct	ctt	ttt	ata	aac	tca	gcc	cac	aac	ttg	gat	att	aac	tac	aac	912
Gl	У	Pro	Leu	Phe	Ile	Asn	Ser	Ala	His	Asn	Leu	Asp	Tle	Asn	Tyr	Asn	
		290					295					300				:	
		-															
8.8	a	ggc	ctt	tac	ttg	ttt	aca	gct	tca	aac	aat	tcc	aaa	aag	ctt	gag	· 9 60
Ly	S	Gly	Leu	Tyr	Leu	Phe	Thr	Ala	Ser	Asn	Asn	Ser	Lys	Lys	Leu	Glu ·	
30	5			•		310					315		٠			320	•
gt	t	aac	cta	agc	act	gcc	aag	ggg	ttg	atg	ttt	gac	gct	aca	gcc	ata	1008
Va	.1	Asn	Leu	Ser	Thr	Ala	Lys	Gly	Leu	Met	Phe	Asp	Ala	Thr	Ala	Ile	
					325			٠.		330					335		•
		•					•			٠				•			
gc	c	att	aat	gca	gga	gat	ggg	ctt	gaa	tţt	ggt	tca	cct	aat	gca	cca	1056
Al	a	Ile	Asn	Ala	Gly	Asp	Gly	Leu	Glu	Phe	Gly	Ser	Pro	Asn	Ala	Pro	
				340					345			-		350			
						•											
aa	c	aca	aat	ccc	ctc	aaa	aca	aaa	att	ggc	cat	ggc	cta	gaa	ttt	gat	1104
As	n	Thr	Asn	Pro	Leu	Lys	Thr	Lys	Ile	Gly	His	Gly	Leu	Glu	Phe	Asp	
			355			-		360					365		-		
								•					-			•	
to	a	aac	aag	gct	atg	gtt	cct	aaa	cta	gga	act	ggc	ctt	agt	ttt	gac	1152
Se	r	Asn	Lys	Ala	Met	Val	Pro	Lys	Leu	Gly	Thr	Gly	Leu	Ser	Phc	Asp	
		370					375					380					
					<u></u>												
ag	C	aca	ggt	gcc	att	aca	gta	gga	aac	888	aat	aat	gat	aag	cta	act	1200
Se	r	Thr	Gly	Ala	Ile	Thr	Val	Gly	Asn	Lys	Asn	Asn	Asp	Lys	Leu	Thr	

ttg tgg acc aca cca gct cca tct cct aac tgt aga cta aat gca gag

395

6 4

390

385

400

Leu Trp Thr Thr Pro Ala Pro Ser Pro Asn Cys Arg Leu Asn Ala Glu 405 410 415 aaa gat get aaa ete aet ttg gte tta aca aaa tgt gge agt caa ata 1296 · Lys Asp Ala Lys Leu Thr Leu Val Leu Thr Lys Cys Gly Ser Gln Ile 420 425 430 ctt gct aca gtt tca gtt ttg gct gtt aaa ggc agt ttg gct cca ata 1344 Leu Ala Thr Val Ser Val Leu Ala Val Lys Gly Ser Leu Ala Pro Ile 435 440 445 tet gga aca gtt caa agt get eat ett att ata aga ttt gac gaa aat 1392 Ser Gly Thr Val Gln Ser Ala His Leu Ile Ile Arg Phe Asp Glu Asn 450 455 460 gga gtg cta cta aac aat tcc ttc ctg gac cca gaa tat tgg aac ttt 1440 Gly Val Leu Leu Asn Asn Ser Phe Leu Asp Pro Glu Tyr Trp Asn Phe 465 470 475 480 aga aat gga gat ctt act gaa ggc aca gcc tat aca aac gct gtt gga 1488 Arg Asn Gly Asp Leu Thr Glu Gly Thr Ala Tyr Thr Asn Ala Val Gly 485 490 495 ttt atg cct aac cta tca gct tat cca aaa tct cac ggt aaa act gcc 1536 Phe Met Pro Asn Leu Ser Ala Tyr Pro Lys Ser His Gly Lys Thr Ala 500 505 510

Lys Ser Asn Ile Val Ser Gln Val Tyr Leu Asn Gly Asp Lys Thr Lys

aaa agt aac att gtc agt caa gtt tac tta aac gga gac aaa act aaa

cct gta aca cta acc att aca cta aac ggt aca cag gaa aca gga gac Pro Val Thr Leu Thr Ile Thr Leu Asn Gly Thr Gln Glu Thr Gly Asp aca act cca agt gca tac tct atg tca ttt tca tgg gac tgg tct ggc Thr Thr Pro Ser Ala Tyr Ser Met Ser Phe Ser Trp Asp Trp Ser Gly cac aac tac att aat gaa ata ttt gcc acc tcg agt tac act ttt tca His Asn Tyr Ile Asn Glu Ile Phe Ala Thr Ser Ser Tyr Thr Phe Ser tac att gec caa gaa eea tea gee tee gea tet get tee gee eet gga Tyr Ile Ala Gln Glu Pro Ser Ala Ser Ala Ser Ala Ser Ala Pro Gly aaa aaa aag aag aag aaa aag aaa gga too tac too atg gag cac tto Lys Lys Lys Lys Lys Lys Gly Ser Tyr Ser Met Glu His Phe

cgc tgg ggc aag ccg gtg taa

Arg Trp Gly Lys Pro Val

<210> 21

<211> 1893

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> DNA coding a modified fiber protein of pWE6.7R-F/gsK21MSHa

<220>

<221> CDS

<222> (1)..(1890)

<400> 21

atg aag cgc gca aga ccg tct gaa gat acc ttc aac ccc gtg tat cca 48

Met Lys Arg Ala Arg Pro Ser Glu Asp Thr Phe Asn Pro Val Tyr Pro

1 5 10 15

tat gac acg gaa acc ggt cct cca act gtg cct ttt ctt act cct ccc 96

Tyr Asp Thr Glu Thr Gly Pro Pro Thr Val Pro Phe Leu Thr Pro Pro
20 25 30

ttt gta tcc ccc aat ggg ttt caa gag agt ccc cct ggg gta ctc tct 144

Phe Val Ser Pro Asn Gly Phe Gln Glu Ser Pro Pro Gly Val Leu Ser

35 40 45

ttg cgc cta tcc gaa cct cta gtt acc tcc aat ggc atg ctt gcg ctc 192 Leu Arg Leu Ser Glu Pro Leu Val Thr Ser Asn Gly Met Leu Ala Leu 50

55

											٠.	•				
aaa	atg	ggc	aac	ggo	cto	tct	ctg	gac	gag	gcc	ggc	aac	ctt	acc	tcc	240
Lys	Met	Gly	Asn	Gly	Leu	Ser	Leu	Asp	G1u	Ala	Gly	Asn	Leu	T h r	Ser	
65					70)				75			•		80	
														•		
caa	aat	gta	acc	act	gte	agc	cca	cct	ctc	aaa	ลลล	acc	ลลฮ	tea	aac	288
						•									Asn	200
				85	•				90		273		பிப		٠.	
				OJ					90	•				95		
at a	000	a+	a c c	01-	4 _ Ł					-44						
		•		-											cta	336
ίτe	ASD	Leu			Ser	Ala	Pro		Thr	Val	Thr	Ser	Glu	Ala	Leu	
			100					105					110			
			•										٠.			
act	gtg	gct	gcc	gcc	gca	cct	cta	atg	gtc	gcg	ggc	aac	aca	ctc	acc	384
Thr	Val	Ala	Ala	Ala	Ala	Pro	Leu	Met	Val	Ala	Gly	Asn	Thr	Leu	Thr	•
		115					120		٠		ē	125	•			
	•	•					,		•							
atg	caa	tca	cag	gcc	ccg	cta	acc	gtg	cac	gac	tcc	aaa	ctţ	agc	att	432
									His			٠.				
	130		•			135				_	140	7				
:					-							-		•		
gcc	ጸርሮ	caa	gga	CCC	ctc	aca	øtø	tes	(72) 2	QQ2.	224	ot o		n+e		. 100
	Thr		66ª						gaa Glu					•	_uaa_	
	1111.	AIII	g1 Å				491	oei.	Glu		гàг	ren	AIA	Leu	-	•
145		٠		•	150			•		155					160	
•					·									-		
aca	tca	ggc	ccc	ctc	acc	acc	acc	gat	agc	agt	acc	ctt	act	atc	act	528
Thr	Ser	Gly	Pro	Leu-	Thr	Thr	Thr	Asp	Ser	Ser	Thr	Leu	Thr	Ile	Thr	
				165		•	•		170					175		

gcc tca ccc co	ct cta act act gc	c act ggt agc ttg	ggc att gac ttg	576
		a Thr Gly Ser Leu		
	30	185	190	
aaa gag ccc at	t tat aca caa aa	t gga aaa cta gga	cta aag tac ggg	624
		Gly Lys Leu Gly		
195	200	•	205	
get eet ttg ca	t gta aca gac gac	cta aac act ttg a	acc gta gca act	672
Ala Pro Leu His	s Val Thr Asp Asp	Leu Asn Thr Leu 1	Thr Val Ala Thr	
210	215	220	·	
		·		
ggt cca ggt gtg	g act att aat aat	act tcc ttg caa a	ct aaa gtt act	720
Gly Pro Gly Val	Thr Ile Asn Asn	Thr Ser Leu Gln T	hr Lys Val Thr	
225	230	235	240	
	•			
gga gcc ttg ggt	ttt gat tca caa	ggc aat atg caa c	tt aat gta gca	768
Gly Ala Leu Gly	Phe Asp Ser Gln	Gly Asn Met Gln Lo	eu Asn Val Ala	
	245	250	255	
		aac aga cgc ctt at		816
Gly Gly Leu Arg	Ile Asp Ser Gln	Asn Arg Arg Leu II	e Leu Asp Val	
260		265	270	
		caa cta aat cta ag	•	864
Ser Tyr Pro Phe	Asp Ala Gln Asn (31n Leu Asn Leu Ar	g Leu Gly Gln	
275	280	28	5	

ggc cct ctt ttt ata aac tca gcc cac aac ttg gat att aac tac aac 912 Gly Pro Leu Phe Ile Asn Ser Ala His Asn Leu Asp Ile Asn Tyr Asn aaa ggc ctt tac ttg ttt aca gct tca aac aat tcc aaa aag ctt gag Lys Gly Leu Tyr Leu Phe Thr Ala Ser Asn Asn Ser Lys Lys Leu Glu gtt aac cta agc act gcc aag ggg ttg atg ttt gac gct aca gcc ata Val Asn Leu Ser Thr Ala Lys Gly Leu Met Phe Asp Ala Thr Ala Ile gcc att aat gca gga gat ggg ctt gaa ttt ggt tca cct aat gca cca Ala Ile Asn Ala Gly Asp Gly Leu Glu Phe Gly Ser Pro Asn Ala Pro aac aca aat ccc ctc aaa aca aaa att ggc cat ggc cta gaa ttt gat Asn Thr Asn Pro Leu Lys Thr Lys Ile Gly His Gly Leu Glu Phe Asp tca aac aag gct atg gtt cct aaa cta gga act ggc ctt agt ttt gac Ser Asn Lys Ala Met Val Pro Lys Leu Gly Thr Gly Leu Ser Phe Asp agc aca ggt gcc att aca gta gga aac aaa aat aat gat aag cta act Ser Thr Gly Ala Ile Thr Val Gly Asn Lys Asn Asp Lys Leu Thr

ttg tgg acc aca cca gct cca tct cct aac tgt aga cta aat gca gag

Leu Trp Thr Thr Pro Ala Pro Ser Pro Asn Cys Arg Leu Asn Ala Glu aaa gat gct aaa ctc act ttg gtc tta aca aaa tgt ggc agt caa ata Lys Asp Ala Lys Leu Thr Leu Val Leu Thr Lys Cys Gly Ser Gln Ile ctt gct aca gtt tca gtt ttg gct gtt aaa ggc agt ttg gct cca ata Leu Ala Thr Val Ser Val Leu Ala Val Lys Gly Ser Leu Ala Pro Ile tct gga aca gtt caa agt gct cat ctt att ata aga ttt gac gaa aat Ser Gly Thr Val Gln Ser Ala His Leu Ile Ile Arg Phe Asp Glu Asn gga gtg cta cta aac aat tcc ttc ctg gac cca gaa tat tgg aac ttt Gly Val Leu Leu Asn Asn Ser Phe Leu Asp Pro Glu Tyr Trp Asn Phe aga aat gga gat ctt act gaa ggc aca gcc tat aca aac gct gtt gga Arg Asn Gly Asp Leu Thr Glu Gly Thr Ala Tyr Thr Asn Ala Val Gly . ttt atg cet aac eta tea get tat eea aaa tet eac ggt aaa aet gee Phe Met Pro Asn Leu Ser Ala Tyr Pro Lys Ser His Gly Lys Thr Ala

aaa agt aac att gtc agt caa gtt tac tta aac gga gac aaa act aaa

Lys Ser Asn Ile Val Ser Gln Val Tyr Leu Asn Gly Asp Lys Thr Lys

515

520

					•											
cct	gta	aca	ı cta	a acc	att	aca	cta	aac	ggt	aca	cag	gaa	aca	gga	gac	1632
Pro	Val	Thr	Leu	1 Thr	· Ile	Thr	Leu	Asn	Gly	Thr	Gln	Glu	Thr	Gly	Asp	
	· 5 30)				5 35	;				540					-
										•	٠	-				
aca	act	cca	agt	gca	tac	tct	atg	tca	ttt	tca	tgg	gac	tgg	tct	ggc	1680
Thr	Thr	Pro	Ser	Ala	Tyr	Ser	Met	Ser	Phe	Ser	Trp	Asp	Trp	Ser	Gly	
545		•			550					555					560	
															·	
cac	aac	tac	alt	aat	gaa	ata	ttt	gcc	acc	tcg	agt	tac	act	ttt	tca	1728
His	Asn	Tyr	Ile	Asn	Glu	Ile	Phe	Ala	Thr	Ser	Ser	Tyr	Thr	Phe	Ser	
			•	565				٠	570					57 5		
								•								
tac	att	gcc	caa	gaa	ggt	tct	gga	agt	ggt	agt	ggt	tcl	ggc	agc	gga	1776
Tyr	Ile	Ala	Gln	Glu	Gly	Ser	Gly	Ser	Gly	Ser	Gly	Ser	Gly	Ser	Glý	
	٠		580		-			585				•	590			
					•											٠.
tct	gga	tct	aag	aag	aag	aag	aag	aaa	aag	aag	aaa	aag	aag	aag	aag	1824
Ser	Gly		Lys	Lys	Lys	Lys	Lys	Lys	Lys	Lys	Lys	Lys	Lys	Lys	Lys	
		59 5					600					605				
	÷ ,	:				•										
	-						aaa									1872
Lys		Lys	Lys	Lys			Lys	Gly	Ser				Glu	His	Phe	
	610					615					620					
		•					•	•								٠.
cgc						taa									٠	1893
Arg	Trp	Gly	Lys	Pro										٠.		
625					630									•		

<210> 22

<211> 1923

<212> DNA -

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> DNA coding a modified fiber protein of pWE6.7R-F/asK21MSHb

<220>

<221> CDS

<222> (1)..(1920)

<400> 22

tat gac acg gaa acc ggt cct cca act gtg cct ttt ctt act cct ccc 96

Tyr Asp Thr Glu Thr Gly Pro Pro Thr Val Pro Phe Leu Thr Pro Pro
20 25 30

ttt gta tee eec aat ggg ttt caa gag agt eec eet ggg gta ete tet 144
Phe Val Ser Pro Asn Gly Phe Gln Glu Ser Pro Pro Gly Val Leu Ser
35 40 45

ttg cgc cta tcc gaa cct cta gtt acc tcc aat ggc atg ctt gcg ctc 192 Leu Arg Leu Ser Glu Pro Leu Val Thr Ser Asn Gly Met Leu Ala Leu

55

60

									:							
aaa	atg	ggc	aac	ggc	ctc	tct	ctg	gac	gag	gcc	ggc	aac	ctt	acc	tcc	240
				Gly												
65					70					75					80	
								٠					·			
caa	aat	gta	acc	act	gtg	agc	cca	cct	ctç	aaa	aaa	acc	aag	tca	aac	288
Gln	Asn	Val	Thr	Thr	Val	Ser	Pro	Pro	Leu	Lys	Lys	Thr	Lys	Ser	Asn	
	•			85		-			90				•	95		
	-				-										-	
ata	aac	ctg	gaa	ata	tct	gça	ccc	ctc	aca	gtt	acc	tca	gaa	gcc	cta	336
İle	Asn	Leu	Glu	Ile	Ser	Ala	Pro	Leu	Thr	Val	Thr	Ser	Glu	Ala	Leu	
			100					105					110			
act	gtg	gct	gcc	gcc	gca	cct	cta	atg	gtc	gcg	ggc	aac	aca	ctc	acc	384
Thr	Val	Ala	Ála	Ala	Ala	Pro	Leu	Met	Val	Ala	Gly	Asn	Thr	Leu	Thr	
		115					120			•		125				
				•												
atg	caa	tca	cag	gcc	ccg	cta	acc	gtg	cac	gac	tcc	aaa	ctt	agc	att	432
Met	Gln	Ser	Ġln	Ala	Pro	Leu	Thr	Val	His	Asp	Ser	Lys	Leu	Ser	Ile	
	130				-	135				٠	140	•			•	
					•								•			
gcc	acc	caa	gga	ccc	ctc	aca	gtg	tca	gaa	gga	aag	cta	gcc	ctg	caa	480
Ala	Thr	Gln	Gly	Pro	Leu	Thr	Val	Ser	Glu	Gly	Lys	Leu	Ala	Leu	Gln	
145	•				150					155					160	
			•			•		•								
aca	tca	ggc	ccc	ctc	acc	acc	acc	gat	agc	agt	acc	ctt	act	atc	act	528
Thr	Ser	Gly	Pro	Leu	Thr	Thr	Thr	Asp	Ser	Ser	Thr	Leu	Thr	Ile	Thr	
_				165					170					175		•

gcc tca ccc cct	cta act act gcc	act ggt agc tt	g ggc att gac ttg	576
			u Gly Ile Asp Leu	
180		185	190	
				•
aaa gag ccc att 1	at aca caa aat	gga aaa cta go:	a cta aag tac ggg	69 A
			y Leu Lys Tyr Gly	624
195	200	art mas red all		
-55			205	
get eet tte eat o	ta ana man man	1 1 0 000 14.		
gct cct ttg cat g	•			672
Ala Pro Leu His V 210		•	•	
	215	220	•	
ggt oog ggt gtg o			·	
ggt cca ggt gtg a				720
Gly Pro Gly Val T		hr Ser Leu Gln	Thr Lys Val Thr	
225	230	235	240	
gga gcc ttg ggt tt				768
Gly Ala Leu Gly Ph	e Asp Ser Gln G	ly Asn Met Gln	Leu Asn Val Ala	
24	5	250	255	
	-			
gga gga cta agg at	t gat tet caa aa	nc aga ege ett	ata ctt gat gtt	816
Gly Gly Leu Arg Il	e-Asp-Ser-Gln-As	on Arg Arg Leu	lle Leu Asp Val	
260	26	5	270	
agt tat ccg ttt ga	t get caa aac ca	a cta aat cta	aga cta gga cag	864
Ser Tyr Pro Phe Asp				
275	280		285	

ggc cct ctt ttt ata aac tca gcc cac aac ttg gat att aac tac aac 912 Gly Pro Leu Phe Ile Asn Ser Ala His Asn Leu Asp Ile Asn Tyr Asn 290 295 300 aaa ggc ctt tac ttg ttt aca gct tca aac aat tcc aaa aag ctt gag 960 Lys Gly Leu Tyr Leu Phe Thr Ala Ser Asn Asn Ser Lys Lys Leu Glu 305 310 315 320 gtt aac cta agc act gcc aag ggg ttg atg ttt gac gct aca gcc ata 1008 Val Asn Leu Ser Thr Ala Lys Gly Leu Met Phe Asp Ala Thr Ala Ile 325 330 335 gcc att aat gca gga gat ggg ctt gaa ttt ggt tca cct aat gca cca 1056 Ala Ile Asn Ala Gly Asp Gly Leu Glu Phe Gly Ser Pro Asn Ala Pro 340 345 350 aac aca aat ccc ctc aaa aca aaa att ggc cat ggc cta gaa ttt gat 1104 Asn Thr Asn Pro Leu Lys Thr Lys Ile Gly His Gly Leu Glu Phe Asp 355 360 365 tca aac aag gct atg gtt cct aaa cta gga act ggc ctt agt ttt gac 1152 Ser Asn Lys Ala Met Val Pro Lys Leu Gly Thr Gly Leu Ser Phe Asp 370 375 380 agc aca ggt gcc att aca gta gga aac aaa aat aat gat aag cta act 1200 Ser Thr Gly Ala Ile Thr Val Gly Asn Lys Asn Asn Asp Lys Leu Thr 385 390 395 400																		
aaa ggc ctt tac ttg ttt aca gct tca aac aat tcc aaa aag ctt gag 960 Lys Gly Leu Tyr Leu Phe Thr Ala Ser Asn Asn Ser Lys Lys Leu Glu 305 310 315 320 gtt aac cta agc act gcc aag ggg ttg atg ttt gac gct aca gcc ata 1008 Val Asn Leu Ser Thr Ala Lys Gly Leu Met Phe Asp Ala Thr Ala Ile 325 330 335 gcc att aat gca gga gat ggg ctt gaa ttt ggt tca cct aat gca cca 1056 Ala Ile Asn Ala Gly Asp Gly Leu Glu Phe Gly Ser Pro Asn Ala Pro 340 345 350 aac aca aat ccc ctc aaa aca aaa att ggc cat ggc cta gaa ttt gat 1104 Asn Thr Asn Pro Leu Lys Thr Lys Ile Gly His Gly Leu Glu Phe Asp 355 360 365 tca aac aag gct atg gtt cct aaa cta gga act ggc ctt agt ttt gac 1152 Ser Asn Lys Ala Met Val Pro Lys Leu Gly Thr Gly Leu Ser Phe Asp 370 375 380 agc aca ggt gcc att aca gta gga aac aaa aat aat gat aag cta act 1200 Ser Thr Gly Ala Ile Thr Val Gly Asn Lys Asn Asn Asp Lys Leu Thr		ggc	cct	ctt	ttt	ata	aac	tca	gcc	cac	aac	ttg	gat	att	aac	tac	aac	912
aaa ggc ctt tac ttg ttt aca gct tca aac aat tcc aaa aag ctt gag Lys Gly Leu Tyr Leu Phe Thr Ala Ser Asn Asn Ser Lys Lys Leu Glu 305 310 315 320 gtt aac cta agc act gcc aag ggg ttg atg ttt gac gct aca gcc ata 1008 Val Asn Leu Ser Thr Ala Lys Gly Leu Met Phe Asp Ala Thr Ala Ile 325 330 335 gcc att aat gca gga gat ggg ctt gaa ttt ggt tca cct aat gca cca 1056 Ala Ile Asn Ala Gly Asp Gly Leu Glu Phe Gly Ser Pro Asn Ala Pro 340 345 350 aac aca aat ccc ctc aaa aca aaa att ggc cat ggc cta gaa ttt gat 1104 Asn Thr Asn Pro Leu Lys Thr Lys Ile Gly His Gly Leu Glu Phe Asp 355 360 365 tca aac aag gct atg gtt cct aaa cta gga act ggc ctt agt ttt gac 1152 Ser Asn Lys Ala Met Val Pro Lys Leu Gly Thr Gly Leu Ser Phe Asp 370 375 380 agc aca ggt gcc att aca gta gga aac aaa aat aat gat aag cta act 1200 Ser Thr Gly Ala Ile Thr Val Gly Asn Lys Asn Asn Asp Lys Leu Thr		Gly	Pro	Leu	Phe	Ile	Asn	Ser	Ala	His	Asn	Leu	Asp	Ile	Asn	Tyr	Asn	
Lys Gly Leu Tyr Leu Phe Thr Ala Ser Asn Asn Ser Lys Lys Leu Glu 305 310 315 320 gtt aac cta agc act gcc aag ggg ttg atg ttt gac gct aca gcc ata 1008 Val Asn Leu Ser Thr Ala Lys Gly Leu Met Phe Asp Ala Thr Ala Ile 325 330 335 gcc att aat gca gga gat ggg ctt gaa ttt ggt tca cct aat gca cca 1056 Ala Ile Asn Ala Gly Asp Gly Leu Glu Phe Gly Ser Pro Asn Ala Pro 340 345 350 aac aca aat ccc ctc aaa aca aaa att ggc cat ggc cta gaa ttt gat 1104 Asn Thr Asn Pro Leu Lys Thr Lys Ile Gly His Gly Leu Glu Phe Asp 355 360 365 tca aac aag gct atg gtt cct aaa cta gga act ggc ctt agt ttt gac 1152 Ser Asn Lys Ala Met Val Pro Lys Leu Gly Thr Gly Leu Ser Phe Asp 370 375 380 agc aca ggt gcc att aca gta gga aac aaa aat gat aag cta act 1200 Ser Thr Gly Ala Ile Thr Val Gly Asn Lys Asn Asn Asp Lys Leu Thr			290					295		-			300					-
Lys Gly Leu Tyr Leu Phe Thr Ala Ser Asn Asn Ser Lys Lys Leu Glu 305 310 315 320 gtt aac cta agc act gcc aag ggg ttg atg ttt gac gct aca gcc ata 1008 Val Asn Leu Ser Thr Ala Lys Gly Leu Met Phe Asp Ala Thr Ala Ile 325 330 335 gcc att aat gca gga gat ggg ctt gaa ttt ggt tca cct aat gca cca 1056 Ala Ile Asn Ala Gly Asp Gly Leu Glu Phe Gly Ser Pro Asn Ala Pro 340 345 350 aac aca aat ccc ctc aaa aca aaa att ggc cat ggc cta gaa ttt gat 1104 Asn Thr Asn Pro Leu Lys Thr Lys Ile Gly His Gly Leu Glu Phe Asp 355 360 365 tca aac aag gct atg gtt cct aaa cta gga act ggc ctt agt ttt gac 1152 Ser Asn Lys Ala Met Val Pro Lys Leu Gly Thr Gly Leu Ser Phe Asp 370 375 380 agc aca ggt gcc att aca gta gga aac aaa aat gat aag cta act 1200 Ser Thr Gly Ala Ile Thr Val Gly Asn Lys Asn Asn Asp Lys Leu Thr					٠					•					•			
Lys Gly Leu Tyr Leu Phe Thr Ala Ser Asn Asn Ser Lys Lys Leu Glu 305 310 315 320 gtt aac cta agc act gcc aag ggg ttg atg ttt gac gct aca gcc ata 1008 Val Asn Leu Ser Thr Ala Lys Gly Leu Met Phe Asp Ala Thr Ala Ile 325 330 335 gcc att aat gca gga gat ggg ctt gaa ttt ggt tca cct aat gca cca 1056 Ala Ile Asn Ala Gly Asp Gly Leu Glu Phe Gly Ser Pro Asn Ala Pro 340 345 350 aac aca aat ccc ctc aaa aca aaa att ggc cat ggc cta gaa ttt gat 1104 Asn Thr Asn Pro Leu Lys Thr Lys Ile Gly His Gly Leu Glu Phe Asp 355 360 365 tca aac aag gct atg gtt cct aaa cta gga act ggc ctt agt ttt gac 1152 Ser Asn Lys Ala Met Val Pro Lys Leu Gly Thr Gly Leu Ser Phe Asp 370 375 380 agc aca ggt gcc att aca gta gga aac aaa aat gat aag cta act 1200 Ser Thr Gly Ala Ile Thr Val Gly Asn Lys Asn Asn Asp Lys Leu Thr		aaa	ggc	ctt	tac	tte	ttt	aca	get	tca	aac	aat.	tee	ลลล	ลลฮ	ctt	gag	960
gtt aac cta agc act gcc aag ggg ttg atg ttt gac gct aca gcc ata 1008 Val Asn Leu Ser Thr Ala Lys Gly Leu Met Phe Asp Ala Thr Ala Ile 325 330 335 gcc att aat gca gga gat ggg ctt gaa ttt ggt tca cct aat gca cca 1056 Ala Ile Asn Ala Gly Asp Gly Leu Glu Phe Gly Ser Pro Asn Ala Pro 340 345 350 aac aca aat ccc ctc aaa aca aaa att ggc cat ggc cta gaa ttt gat 1104 Asn Thr Asn Pro Leu Lys Thr Lys Ile Gly His Gly Leu Glu Phe Asp 355 360 365 tca aac aag gct atg gtt cct aaa cta gga act ggc ctt agt ttt gac 1152 Ser Asn Lys Ala Met Val Pro Lys Leu Gly Thr Gly Leu Ser Phe Asp 370 375 380 agc aca ggt gcc att aca gta gga aac aaa aat aat gat aag cta act 1200 Ser Thr Gly Ala Ile Thr Val Gly Asn Lys Asn Asn Asp Lys Leu Thr			•						_						_			
gtt aac cta agc act gcc aag ggg ttg atg ttt gac gct aca gcc ata 1008 Val Asn Leu Ser Thr Ala Lys Gly Leu Met Phe Asp Ala Thr Ala Ile 325 330 335 gcc att aat gca gga gat ggg ctt gaa ttt ggt tca cct aat gca cca 1056 Ala Ile Asn Ala Gly Asp Gly Leu Glu Phe Gly Ser Pro Asn Ala Pro 340 345 350 aac aca aat ccc ctc aaa aca aaa att ggc cat ggc cta gaa ttt gat 1104 Asn Thr Asn Pro Leu Lys Thr Lys Ile Gly His Gly Leu Glu Phe Asp 355 360 365 tca aac aag gct atg gtt cct aaa cta gga act ggc ctt agt ttt gac 1152 Ser Asn Lys Ala Met Val Pro Lys Leu Gly Thr Gly Leu Ser Phe Asp 370 375 380 agc aca ggt gcc att aca gta gga aac aaa aat aat gat aag cta act 1200 Ser Thr Gly Ala Ile Thr Val Gly Asn Lys Asn Asn Asp Lys Leu Thr			0		-4-					501				1 ,0	2,5	Lou		
Val Asn Leu Ser Thr Ala Lys Gly Leu Met Phe Asp Ala Thr Ala Ile 325 330 335 gcc att aat gca gga gat ggg ctt gaa ttt ggt tca cct aat gca cca 1056 Ala Ile Asn Ala Gly Asp Gly Leu Glu Phe Gly Ser Pro Asn Ala Pro 340 345 350 aac aca aat ccc ctc aaa aca aaa att ggc cat ggc cta gaa ttt gat 1104 Asn Thr Asn Pro Leu Lys Thr Lys Ile Gly His Gly Leu Glu Phe Asp 355 360 365 tca aac aag gct atg gtt cct aaa cta gga act ggc ctt agt ttt gac 1152 Ser Asn Lys Ala Met Val Pro Lys Leu Gly Thr Gly Leu Ser Phe Asp 370 375 380 agc aca ggt gcc att aca gta gga aac aaa aat aat gat aag cta act 1200 Ser Thr Gly Ala Ile Thr Val Gly Asn Lys Asn Asn Asp Lys Leu Thr		500		•								άIJ				-	JLU	
Val Asn Leu Ser Thr Ala Lys Gly Leu Met Phe Asp Ala Thr Ala Ile 325 330 335 gcc att aat gca gga gat ggg ctt gaa ttt ggt tca cct aat gca cca 1056 Ala Ile Asn Ala Gly Asp Gly Leu Glu Phe Gly Ser Pro Asn Ala Pro 340 345 350 aac aca aat ccc ctc aaa aca aaa att ggc cat ggc cta gaa ttt gat 1104 Asn Thr Asn Pro Leu Lys Thr Lys Ile Gly His Gly Leu Glu Phe Asp 355 360 365 tca aac aag gct atg gtt cct aaa cta gga act ggc ctt agt ttt gac 1152 Ser Asn Lys Ala Met Val Pro Lys Leu Gly Thr Gly Leu Ser Phe Asp 370 375 380 agc aca ggt gcc att aca gta gga aac aaa aat aat gat aag cta act 1200 Ser Thr Gly Ala Ile Thr Val Gly Asn Lys Asn Asn Asp Lys Leu Thr		44.4								4.4	_4_	111					. 4	1000
gcc att aat gca gga gat ggg ctt gaa ttt ggt tca cct aat gca cca 1056 Ala Ile Asn Ala Gly Asp Gly Leu Glu Phe Gly Ser Pro Asn Ala Pro 340 345 350 aac aca aat ccc ctc aaa aca aaa att ggc cat ggc cta gaa ttt gat 1104 Asn Thr Asn Pro Leu Lys Thr Lys Ile Gly His Gly Leu Glu Phe Asp 355 360 365 tca aac aag gct atg gtt cct aaa cta gga act ggc ctt agt ttt gac 1152 Ser Asn Lys Ala Met Val Pro Lys Leu Gly Thr Gly Leu Ser Phe Asp 370 375 380 agc aca ggt gcc att aca gta gga aac aaa aat aat gat aag cta act 1200 Ser Thr Gly Ala Ile Thr Val Gly Asn Lys Asn Asn Asp Lys Leu Thr								-										1008
gcc att aat gca gga gat ggg ctt gaa ttt ggt tca cct aat gca cca 1056 Ala Ile Asn Ala Gly Asp Gly Leu Glu Phe Gly Ser Pro Asn Ala Pro 340 345 350 aac aca aat ccc ctc aaa aca aaa att ggc cat ggc cta gaa ttt gat 1104 Asn Thr Asn Pro Leu Lys Thr Lys Ile Gly His Gly Leu Glu Phe Asp 355 360 365 tca aac aag gct atg gtt cct aaa cta gga act ggc ctt agt ttt gac 1152 Ser Asn Lys Ala Met Val Pro Lys Leu Gly Thr Gly Leu Ser Phe Asp 370 375 380 agc aca ggt gcc att aca gta gga aac aaa aat aat gat aag cta act 1200 Ser Thr Gly Ala Ile Thr Val Gly Asn Lys Asn Asn Asp Lys Leu Thr		va I	Asn	Leu	ser		Ala	Lys	Gly	Leu		Phe	Asp	Ala	Thr		He	
Ala Ile Asn Ala Gly Asp Gly Leu Glu Phe Gly Ser Pro Asn Ala Pro 340 345 350 aac aca aat ccc ctc aaa aca aaa att ggc cat ggc cta gaa ttt gat 1104 Asn Thr Asn Pro Leu Lys Thr Lys Ile Gly His Gly Leu Glu Phe Asp 355 360 365 tca aac aag gct atg gtt cct aaa cta gga act ggc ctt agt ttt gac 1152 Ser Asn Lys Ala Met Val Pro Lys Leu Gly Thr Gly Leu Ser Phe Asp 370 375 380 agc aca ggt gcc att aca gta gga aac aaa aat aat gat aag cta act 1200 Ser Thr Gly Ala Ile Thr Val Gly Asn Lys Asn Asn Asp Lys Leu Thr				-		325					330					335		
Ala Ile Asn Ala Gly Asp Gly Leu Glu Phe Gly Ser Pro Asn Ala Pro 340 345 350 aac aca aat ccc ctc aaa aca aaa att ggc cat ggc cta gaa ttt gat 1104 Asn Thr Asn Pro Leu Lys Thr Lys Ile Gly His Gly Leu Glu Phe Asp 355 360 365 tca aac aag gct atg gtt cct aaa cta gga act ggc ctt agt ttt gac 1152 Ser Asn Lys Ala Met Val Pro Lys Leu Gly Thr Gly Leu Ser Phe Asp 370 375 380 agc aca ggt gcc att aca gta gga aac aaa aat aat gat aag cta act 1200 Ser Thr Gly Ala Ile Thr Val Gly Asn Lys Asn Asn Asp Lys Leu Thr						-												
aac aca aat ccc ctc aaa aca aaa att ggc cat ggc cta gaa ttt gat 1104 Asn Thr Asn Pro Leu Lys Thr Lys Ile Gly His Gly Leu Glu Phe Asp 355 360 365 tca aac aag gct atg gtt cct aaa cta gga act ggc ctt agt ttt gac 1152 Ser Asn Lys Ala Met Val Pro Lys Leu Gly Thr Gly Leu Ser Phe Asp 370 375 380 agc aca ggt gcc att aca gta gga aac aaa aat aat gat aag cta act 1200 Ser Thr Gly Ala Ile Thr Val Gly Asn Lys Asn Asn Asp Lys Leu Thr		gcc	att	aat	gca	gga	gat	ggg	ctt	gaa	ttt	ggt	tca	cct	aat	gca	cca	1056
aac aca aat ccc ctc aaa aca aaa att ggc cat ggc cta gaa ttt gat 1104 Asn Thr Asn Pro Leu Lys Thr Lys Ile Gly His Gly Leu Glu Phe Asp 355 360 365 tca aac aag gct atg gtt cct aaa cta gga act ggc ctt agt ttt gac 1152 Ser Asn Lys Ala Met Val Pro Lys Leu Gly Thr Gly Leu Ser Phe Asp 370 375 380 agc aca ggt gcc att aca gta gga aac aaa aat aat gat aag cta act 1200 Ser Thr Gly Ala Ile Thr Val Gly Asn Lys Asn Asn Asp Lys Leu Thr		Ala	Ile	Asn	Ala	Gly	Asp	Gly	Leu	Glu	Phe	Gly	Ser	Pro	Asn	Ala	Pro	
Asn Thr Asn Pro Leu Lys Thr Lys I le Gly His Gly Leu Glu Phe Asp 355 360 365 tea aac aag get atg gtt cet aaa eta gga act gge ett agt ttt gae 1152 Ser Asn Lys Ala Met Val Pro Lys Leu Gly Thr Gly Leu Ser Phe Asp 370 375 380 age aca ggt gee att aca gta gga aac aaa aat aat gat aag eta aet 1200 Ser Thr Gly Ala I le Thr Val Gly Asn Lys Asn Asn Asp Lys Leu Thr					340					345					350			
Asn Thr Asn Pro Leu Lys Thr Lys I le Gly His Gly Leu Glu Phe Asp 355 360 365 tea aac aag get atg gtt cet aaa eta gga act gge ett agt ttt gae 1152 Ser Asn Lys Ala Met Val Pro Lys Leu Gly Thr Gly Leu Ser Phe Asp 370 375 380 age aca ggt gee att aca gta gga aac aaa aat aat gat aag eta aet 1200 Ser Thr Gly Ala I le Thr Val Gly Asn Lys Asn Asn Asp Lys Leu Thr								٠	••					•				
tca aac aag gct atg gtt cct aaa cta gga act ggc ctt agt ttt gac Ser Asn Lys Ala Met Val Pro Lys Leu Gly Thr Gly Leu Ser Phe Asp 370 375 380 agc aca ggt gcc att aca gta gga aac aaa aat aat gat aag cta act Ser Thr Gly Ala Ile Thr Val Gly Asn Lys Asn Asn Asp Lys Leu Thr		aac	aca	aat	ccc	ctc	aaa	aca	aaa	att	ggc	cat	ggc	cta	gaa	ttt	gat	1104
tca aac aag gct atg gtt cct aaa cta gga act ggc ctt agt ttt gac Ser Asn Lys Ala Met Val Pro Lys Leu Gly Thr Gly Leu Ser Phe Asp 370 375 380 agc aca ggt gcc att aca gta gga aac aaa aat aat gat aag cta act 1200 Ser Thr Gly Ala Ile Thr Val Gly Asn Lys Asn Asn Asp Lys Leu Thr		Asn	Thr	Asn	Pro	Leu	Lys	Thr	Lys	I le	Gly	His	Gly	Leu	Glu	Phe	Asp	•
Ser Asn Lys Ala Met Val Pro Lys Leu Gly Thr Gly Leu Ser Phe Asp 370 375 380 agc aca ggt gcc att aca gta gga aac aaa aat aat gat aag cta act 1200 Ser Thr Gly Ala Ile Thr Val Gly Asn Lys Asn Asn Asp Lys Leu Thr	•			355					360	-	-			365		-	•	
Ser Asn Lys Ala Met Val Pro Lys Leu Gly Thr Gly Leu Ser Phe Asp 370 375 380 agc aca ggt gcc att aca gta gga aac aaa aat aat gat aag cta act 1200 Ser Thr Gly Ala Ile Thr Val Gly Asn Lys Asn Asn Asp Lys Leu Thr																	٠.	
Ser Asn Lys Ala Met Val Pro Lys Leu Gly Thr Gly Leu Ser Phe Asp 370 375 380 agc aca ggt gcc att aca gta gga aac aaa aat aat gat aag cta act 1200 Ser Thr Gly Ala Ile Thr Val Gly Asn Lys Asn Asn Asp Lys Leu Thr		tca	aac	aạg	gct	atg	gtt	cct	aaa	cta	gga	act	ggc	ctt	agt	ttt	gac	1152
agc aca ggt gcc att aca gta gga aac aaa aat aat gat aag cta act 1200 Ser Thr Gly Ala Ile Thr Val Gly Asn Lys Asn Asn Asp Lys Leu Thr		_			_													
agc aca ggt gcc att aca gta gga aac aaa aat aat gat aag cta act 1200 Ser Thr Gly Ala Ile Thr Val Gly Asn Lys Asn Asn Asp Lys Leu Thr				- , -		· - ,		•										
Ser Thr Gly Ala Ile Thr Val Gly Asn Lys Asn Asn Asp Lys Leu Thr								UIV					JUV					
Ser Thr Gly Ala Ile Thr Val Gly Asn Lys Asn Asn Asp Lys Leu Thr		960	200		# 0.0			t. ~				a1	-			- - -		1000
																		1200
385 390 395 400			ınr	ыIJ	AIA	116		vai	G1 y	ASD	Lys		Asn	Asp	Lys	ren		
		385					390					395					400	•

ttg tgg acc aca cca gct cca tct cct aac tgt aga cta aat gca gag 1248

Leu Trp Thr Thr Pro Ala Pro Ser Pro Asn Cys Arg Leu Asn Ala Glu 405 410 415 aaa gat get aaa ete aet ttg gte tta aca aaa tgt gge agt caa ata 1296 Lys Asp Ala Lys Leu Thr Leu Val Leu Thr Lys Cys Gly Ser Gln Ile 420 425 430 ctt gct aca gtt tca gtt ttg gct gtt aaa ggc agt ttg gct cca ata 1344 Leu Ala Thr Val Ser Val Leu Ala Val Lys Gly Scr Leu Ala Pro Ile 435 440 445 tct gga aca gtt caa agt gct cat ctt att ata aga ttt gac gaa aat 1392 Ser Gly Thr Val Gln Ser Ala His Leu Ile Ile Arg Phe Asp Glu Asn 450 455 460 gga gtg cta cta aac aat tee tte etg gae eea gaa tat tgg aac ttt 1440 Gly Val Leu Leu Asn Asn Ser Phe Leu Asp Pro Glu Tyr Trp Asn Phe 465 470 475 480 aga aat gga gat ctt act gaa ggc aca gcc tat aca aac gct gtt gga Arg Asn Gly Asp Leu Thr Glu Gly Thr Ala Tyr Thr Asn Ala Val Gly 485-490 ttt atg cct aac cta tca gct tat cca aaa tct cac ggt aaa act gcc 1536 Phe Met Pro Asn Leu Ser Ala Tyr Pro Lys Ser His Gly Lys Thr Ala **500** 505 . 510

aaa agt aac att gtc agt caa gtt tac tta aac gga gac aaa act aaa

Lys	Ser	Asn	Ile	Val	Ser	Gln	Val	Tyr	Leu	Asn	Gly	Asp	Lys	Thr	Lys		
		515					520					525					
	-										-						
cct	gta	aca.	cta	acc	att	aca	cta	aac	ggt	aca	cag	gaa	aca	gga	gac	1632	
Pro	Val	Thr	Leu	Thr	lle	Thr	Leu	Asn	Gly	Thr	Gln	Glu	Thr	Gly	Asp		
	530					535					540						
aca	act	cca	agt	gca	tac	tc t	atg	tca	ttt	tca	tgg	gac	tgg	tct	ggc	1680	
Thr	Thr	Pro	Ser	Ala	Tyr	Ser	Met	Ser	Phe	Ser	Trp	Asp	Trp	Ser	Gly		
545					550	-	•			555		•			560		
٠				•												•	
cac	aac	tac	att	aat	gaa	ata	ttt	gcc	acc	tcg	agt	tac	\mathbf{act}	ttt	tca	1728	
His	Asn	Tyr	Ile	Asn	Glu	Ile	Phe	Ala	Thr	Ser	Ser	Tyr	Thr	Phe	Ser		
				565					570					575			
-				-		•											
tac	att	gcc	caa	gaa	cca	tca	gcc.	tcc	gca	tct	gct	tcc	gcc	cct	gga	1776	
Tyr	Ile	Ala	Gln	Glu	Pro	Ser	Ala	Ser	Ala	Ser	Ala	Ser	Ala	Pro	Gly		
			580				•	585					590				
tct	gga	tct	aag	aag	aag	aag	aag	aaa	aag	aag	aaa	aag	aag	aag	aag	1824	
Ser	Gly	Ser	Lys	Lys	Lýs	Lys	Lys	Lys	Lys	Lys	Lys	Lys	Lys	Lys	Lys	•	
٠	٠.	595					600			•		605					
			•				-	· • · · · · · · · · · · · · · · · · · ·					•			<u> </u>	
aaa	aaa	aag	aag	aag	aaa	aag	aaa	gga	tcc	gcc	gag	aag	aag	gac	gag	1872	
Lys	Lys	Lys	Lys	Lys	Lys	Lys	Lys	Gly	Ser	Ála	Glu	Ļys	Lys	Asp	Glu	-	
_	610				•	615					62 0						
-																	
ggc	ccc	tac	agg	atg	gag	cac	ttc	cgc	tgg	ggc	agc	ccg	ccc	aag	gac	1920	

Gly Pro Tyr Arg Met Glu His Phe Arg Trp Gly Ser Pro Pro Lys Asp

625 630 635 640 1923 taa <210> 23 <211> 1923 <212> DNA <213> Artificial Sequence <220> <223> DNA coding a modified fiber protein of pWE6.7R-F/gsK21MSHb <220> <221> CDS <222> (1)..(1920) <400> 23 atg aag cgc gca aga ccg tct gaa gat acc ttc aac ccc gtg tat cca Met Lys Arg Ala Arg Pro Ser Glu Asp Thr Phe Asn Pro Val Tyr Pro 1 5 10 15 tat gac acg gaa acc ggt cct cca act gtg cct ttt ctt act cct ccc Tyr Asp Thr Glu Thr Gly Pro Pro Thr Val Pro Phe Leu Thr Pro Pro 20 25 30

ttt gta tcc ccc aat ggg ttt caa gag agt ccc cct ggg gta ctc tct 144
Phe Val Ser Pro Asn Gly Phe Gln Glu Ser Pro Pro Gly Val Leu Ser
35 40 45

Leu Arg Leu Ser Glu Pro Leu Val Thr Ser Asn Gly Met Leu Ala Leu 50 55 60 aaa atg ggc aac ggc ctc tct ctg gac gag gcc ggc aac ctt acc tcc Lys Met Gly Asn Gly Leu Ser Leu Asp Glu Ala Gly Asn Leu Thr Ser 65 70 75 80 caa aat gta acc act gtg agc cca cct ctc aaa aaa acc aag tca aac Gln Asn Val Thr Thr Val Ser Pro Pro Leu Lys Lys Thr Lys Ser Asn 85 90 95 ata aac ctg gaa ata tct gca ccc ctc aca gtt acc tca gaa gcc cta Ile Asn Leu Glu Ile Ser Ala Pro Leu Thr Val Thr Ser Glu Ala Leu 100 105 110 act gtg gct gcc gcc gca cct cta atg gtc gcg ggc aac aca ctc acc Thr Val Ala Ala Ala Ala Pro Leu Met Val Ala Gly Asn Thr Leu Thr 115 120 125 atg caa tca cag gcc ccg cta acc gtg cac gac tcc aaa ctt agc att Met Gln Ser Gln Ala Pro Leu Thr Val His Asp Ser Lys Leu Ser Ile 130 135 140																	
Leu Arg Leu Ser Glu Pro Leu Val Thr Ser Asn Gly Met Leu Ala Leu 50 55 60 aaa atg ggc aac ggc ctc tct ctg gac gag gcc ggc aac ctt acc tcc Lys Met Gly Asn Gly Leu Ser Leu Asp Glu Ala Gly Asn Leu Thr Ser 65 70 75 80 caa aat gta acc act gtg agc cca cct ctc aaa aaa acc aag tca aac Gln Asn Val Thr Thr Val Ser Pro Pro Leu Lys Lys Thr Lys Ser Asn 85 90 95 ata aac ctg gaa ata tct gca ccc ctc aca gtt acc tca gaa gcc cta Ile Asn Leu Glu Ile Ser Ala Pro Leu Thr Val Thr Ser Glu Ala Leu 100 105 110 act gtg gct gcc gcc gca cct cta atg gtc gcg ggc aac aca ctc acc Thr Val Ala Ala Ala Ala Pro Leu Met Val Ala Gly Asn Thr Leu Thr 115 120 125 atg caa tca cag gcc ccg cta acc gtg cac gac tcc aaa ctt agc att 432 Met Gin Ser Gln Ala Pro Leu Thr Val His Asp Ser Lys Leu Ser Ile 130 135 140	ţtg	cgc	cta	tcc	gaa	cct	cta	gtt	acc	tcc	aat	ggc	atg	ctt	gcg	ctc	192
aaa atg ggc aac ggc ctc tct ctg gac gag gcc ggc aac ctt acc tcc Lys Net Gly Asn Gly Leu Ser Leu Asp Glu Ala Gly Asn Leu Thr Ser 65 70 75 80 caa aat gta acc act gtg agc cca cct ctc aaa aaa acc aag tca aac Gln Asn Val Thr Thr Val Ser Pro Pro Leu Lys Lys Thr Lys Ser Asn 85 90 95 ata aac ctg gaa ata tct gca ccc ctc aca gtt acc tca gaa gcc cta Ile Asn Leu Glu Ile Ser Ala Pro Leu Thr Val Thr Ser Glu Ala Leu 100 105 110 act gtg gct gcc gcc gca cct cta atg gtc gcg ggc aac aca ctc acc Thr Val Ala Ala Ala Ala Pro Leu Met Val Ala Gly Asn Thr Leu Thr 115 120 125 atg caa tca cag gcc ccg cta acc gtg cac gac tcc aaa ctt agc att 432 Met Gln Ser Gln Ala Pro Leu Thr Val His Asp Ser Lys Leu Ser Ile 130 135 140	_	_			_			•	•								
aaa atg ggc aac ggc ctc tct ctg gac gag gcc ggc aac ctt acc tcc Lys Net Gly Asn Gly Leu Ser Leu Asp Glu Ala Gly Asn Leu Thr Ser 65 70 75 80 caa aat gta acc act gtg agc cca cct ctc aaa aaa acc aag tca aac Gln Asn Val Thr Thr Val Ser Pro Pro Leu Lys Lys Thr Lys Ser Asn 85 90 95 ata aac ctg gaa ata tct gca ccc ctc aca gtt acc tca gaa gcc cta Ile Asn Leu Glu Ile Ser Ala Pro Leu Thr Val Thr Ser Glu Ala Leu 100 105 110 act gtg gct gcc gcc gca cct cta atg gtc gcg ggc aac aca ctc acc Thr Val Ala Ala Ala Ala Pro Leu Met Val Ala Gly Asn Thr Leu Thr 115 120 125 atg caa tca cag gcc ccg cta acc gtg cac gac tcc aaa ctt agc att 432 Met Gin Ser Gln Ala Pro Leu Thr Val His Asp Ser Lys Leu Ser Ile 130 135 140																	
Lys Met Gly Asn Gly Leu Ser Leu Asp Glu Ala Gly Asn Leu Thr Ser 65 70 75 80 caa aat gta acc act gtg agc cca cct ctc aaa aaa acc aag tca aac 288 Gln Asn Val Thr Thr Val Ser Pro Pro Leu Lys Lys Thr Lys Ser Asn 85 90 95 ata aac ctg gaa ata tct gca ccc ctc aca gtt acc tca gaa gcc cta 336 lie Asn Leu Glu Ile Ser Ala Pro Leu Thr Val Thr Ser Glu Ala Leu 100 105 110 act gtg gct gcc gcc gca cct cta atg gtc gcg ggc aac aca ctc acc 384 Thr Val Ala Ala Ala Ala Pro Leu Met Val Ala Gly Asn Thr Leu Thr 115 120 125 atg caa tca cag gcc ccg cta acc gtg cac gac tcc aaa ctt agc att 432 Met Gin Ser Gln Ala Pro Leu Thr Val His Asp Ser Lys Leu Ser Ile 130 135 140		J U										50					
Lys Met Gly Asn Gly Leu Ser Leu Asp Glu Ala Gly Asn Leu Thr Ser 65 70 75 80 caa aat gta acc act gtg agc cca cct ctc aaa aaa acc aag tca aac 288 Gln Asn Val Thr Thr Val Ser Pro Pro Leu Lys Lys Thr Lys Ser Asn 85 90 95 ata aac ctg gaa ata tct gca ccc ctc aca gtt acc tca gaa gcc cta 336 lle Asn Leu Glu Ile Ser Ala Pro Leu Thr Val Thr Ser Glu Ala Leu 100 105 110 act gtg gct gcc gcc gca cct cta atg gtc gcg ggc aac aca ctc acc 384 Thr Val Ala Ala Ala Ala Pro Leu Met Val Ala Gly Asn Thr Leu Thr 115 120 125 atg caa tca cag gcc ccg cta acc gtg cac gac tcc aaa ctt agc att 432 Met Gln Ser Gln Ala Pro Leu Thr Val His Asp Ser Lys Leu Ser Ile 130 135 140		- 4					4.4							a++		+00	940
caa aat gta acc act gtg agc cca cct ctc aaa aaa acc aag tca aac 288 Gln Asn Val Thr Thr Val Ser Pro Pro Leu Lys Lys Thr Lys Ser Asn 85 90 95 ata aac ctg gaa ata tct gca ccc ctc aca gtt acc tca gaa gcc cta 336 Ile Asn Leu Glu Ile Ser Ala Pro Leu Thr Val Thr Ser Glu Ala Leu 100 105 110 act gtg gct gcc gcc gca cct cta atg gtc gcg ggc aac aca ctc acc 384 Thr Val Ala Ala Ala Ala Pro Leu Met Val Ala Gly Asn Thr Leu Thr 115 120 125 atg caa tca cag gcc ccg cta acc gtg cac gac tcc aaa ctt agc att 432 Met Gin Ser Gln Ala Pro Leu Thr Val His Asp Ser Lys Leu Ser Ile 130 135 140														_		_	<i>2</i> 4 0
caa aat gta acc act gtg agc cca cct ctc aaa aaa acc aag tca aac Gln Asn Val Thr Thr Val Ser Pro Pro Leu Lys Lys Thr Lys Ser Asn 85 90 95 ata aac ctg gaa ata tct gca ccc ctc aca gtt acc tca gaa gcc cta Ile Asn Leu Glu Ile Ser Ala Pro Leu Thr Val Thr Ser Glu Ala Leu 100 105 110 act gtg gct gcc gcc gca cct cta atg gtc gcg ggc aac aca ctc acc Thr Val Ala Ala Ala Ala Pro Leu Met Val Ala Gly Asn Thr Leu Thr 115 120 125 atg caa tca cag gcc ccg cta acc gtg cac gac tcc aaa ctt agc att Met Gln Ser Gln Ala Pro Leu Thr Val His Asp Ser Lys Leu Ser Ile 130 135 140	Lys	Net	Gly.	Asn.	Gly	Leu	Ser	Leu	Asp	Glu	Ala	Gly	Asn	ren	Inr		•
Gln Asn Val Thr Thr Val Ser Pro Pro Leu Lys Lys Thr Lys Ser Asn 85 90 95 ata aac ctg gaa ata tet gea cee ete aca gtt ace tea gaa gee eta 336 Ile Asn Leu Glu Ile Ser Ala Pro Leu Thr Val Thr Ser Glu Ala Leu 100 105 110 act gtg get gee gee gea eet eta atg gte geg gge aac aca ete ace 384 Thr Val Ala Ala Ala Ala Pro Leu Met Val Ala Gly Asn Thr Leu Thr 115 120 125 atg caa tea cag gee eeg eta ace gtg cae gae tee aaa ett age att 432 Met Gin Ser Gln Ala Pro Leu Thr Val His Asp Ser Lys Leu Ser Ile 130 135 140	65					70					75	•.		٠.		80	
Gln Asn Val Thr Thr Val Ser Pro Pro Leu Lys Lys Thr Lys Ser Asn 85 90 95 ata aac ctg gaa ata tet gea cee ete aca gtt ace tea gaa gee eta 336 Ile Asn Leu Glu Ile Ser Ala Pro Leu Thr Val Thr Ser Glu Ala Leu 100 105 110 act gtg get gee gee gea eet eta atg gte geg gge aac aca ete ace 384 Thr Val Ala Ala Ala Ala Pro Leu Met Val Ala Gly Asn Thr Leu Thr 115 120 125 atg caa tea cag gee eeg eta ace gtg cae gae tee aaa ett age att 432 Met Gin Ser Gln Ala Pro Leu Thr Val His Asp Ser Lys Leu Ser Ile 130 135 140					٠			•								•	
ata aac ctg gaa ata tct gca ccc ctc aca gtt acc tca gaa gcc cta Ile Asn Leu Glu Ile Ser Ala Pro Leu Thr Val Thr Ser Glu Ala Leu 100 105 110 act gtg gct gcc gcc gca cct cta atg gtc gcg ggc aac aca ctc acc Thr Val Ala Ala Ala Ala Pro Leu Met Val Ala Gly Asn Thr Leu Thr 115 120 125 atg caa tca cag gcc ccg cta acc gtg cac gac tcc aaa ctt agc att Met Gin Ser Gln Ala Pro Leu Thr Val His Asp Ser Lys Leu Ser Ile 130 135 140	caa	aat	gta	acc	act	gtg	agc	cca	cct	ctc	aaa	aaa	acc	aag	tca	aac	288
ata aac ctg gaa ata tet gea cee etc aca gtt ace tea gaa gee eta Ile Asn Leu Glu Ile Ser Ala Pro Leu Thr Val Thr Ser Glu Ala Leu 100 105 110 act gtg get gee gee gea eet eta atg gte geg gge aac aca ete ace Thr Val Ala Ala Ala Ala Pro Leu Met Val Ala Gly Asn Thr Leu Thr 115 120 125 atg caa tea eag gee eeg eta ace gtg cae gae tee aaa ett age att Met Gin Ser Gin Ala Pro Leu Thr Val His Asp Ser Lys Leu Ser Ile 130 135 140	Gln	Asn	Val	Thr	Thr	Val	Ser	Pro	Pro	Leu	Lys	Lys	Thr	Lys	Ser	Asn	
Ile Asn Leu Glu Ile Ser Ala Pro Leu Thr Val Thr Ser Glu Ala Leu 100 105 110 act gtg gct gcc gcc gca cct cta atg gtc gcg ggc aac aca ctc acc 384 Thr Val Ala Ala Ala Ala Pro Leu Met Val Ala Gly Asn Thr Leu Thr 115 120 125 atg caa tca cag gcc ccg cta acc gtg cac gac tcc aaa ctt agc att 432 Met Gln Ser Gln Ala Pro Leu Thr Val His Asp Ser Lys Leu Ser Ile 130 135 140					85					90				·	9 5		
Ile Asn Leu Glu Ile Ser Ala Pro Leu Thr Val Thr Ser Glu Ala Leu 100 105 110 act gtg gct gcc gcc gca cct cta atg gtc gcg ggc aac aca ctc acc 384 Thr Val Ala Ala Ala Ala Pro Leu Met Val Ala Gly Asn Thr Leu Thr 115 120 125 atg caa tca cag gcc ccg cta acc gtg cac gac tcc aaa ctt agc att 432 Met Gln Ser Gln Ala Pro Leu Thr Val His Asp Ser Lys Leu Ser Ile 130 135 140																	
act gtg gct gcc gcc gca cct cta atg gtc gcg ggc aac aca ctc acc Thr Val Ala Ala Ala Ala Pro Leu Met Val Ala Gly Asn Thr Leu Thr 115 120 125 atg caa tca cag gcc ccg cta acc gtg cac gac tcc aaa ctt agc att Met Gin Ser Gln Ala Pro Leu Thr Val His Asp Ser Lys Leu Ser Ile 130 135 140	ata	aac	ctg	gaa	ata	tct	gca	ccc	ctc	aca	gtt	acc	tca	gaa	gcc	cta	336
act gtg gct gcc gcc gca cct cta atg gtc gcg ggc aac aca ctc acc Thr Val Ala Ala Ala Ala Pro Leu Met Val Ala Gly Asn Thr Leu Thr 115 120 125 atg caa tca cag gcc ccg cta acc gtg cac gac tcc aaa ctt agc att Met Gin Ser Gln Ala Pro Leu Thr Val His Asp Ser Lys Leu Ser Ile 130 135 140	Ile	Asn	Leu	Glu	Ile	Ser	Ala	Pro	Leu	Thr	Val	Thr	Ser	Glu	Ala	Leu	
act gtg gct gcc gcc gca cct cta atg gtc gcg ggc aac aca ctc acc Thr Val Ala Ala Ala Ala Pro Leu Met Val Ala Gly Asn Thr Leu Thr 115 120 125 atg caa tca cag gcc ccg cta acc gtg cac gac tcc aaa ctt agc att Met Gin Ser Gln Ala Pro Leu Thr Val His Asp Ser Lys Leu Ser Ile 130 135 140					•						•						-
Thr Val Ala Ala Ala Ala Pro Leu Met Val Ala Gly Asn Thr Leu Thr 115 120 125 atg caa tca cag gcc ccg cta acc gtg cac gac tcc aaa ctt agc att 432 Met Gin Ser Gln Ala Pro Leu Thr Val His Asp Ser Lys Leu Ser Ile 130 135 140					•						•						
Thr Val Ala Ala Ala Ala Pro Leu Met Val Ala Gly Asn Thr Leu Thr 115 120 125 atg caa tca cag gcc ccg cta acc gtg cac gac tcc aaa ctt agc att 432 Met Gin Ser Gln Ala Pro Leu Thr Val His Asp Ser Lys Leu Ser Ile 130 135 140	act	σtσ	ort	gee	gee	o ra	cct	cta	atø	øtc	geg	gge	aac	aca	ete	acc	384
atg caa tca cag gcc ccg cta acc gtg cac gac tcc aaa ctt agc att 432 Met Gin Ser Gln Ala Pro Leu Thr Val His Asp Ser Lys Leu Ser Ile 130 135 140		•															001
atg caa tca cag gcc ccg cta acc gtg cac gac tcc aaa ctt agc att 432 Met Gin Ser Gln Ala Pro Leu Thr Val His Asp Ser Lys Leu Ser Ile 130 135 140	mı	Vai		Ala	Ala	Ala	Pro		net	Vai	nia	uly		1111	Leu	1111	
Met Gin Ser Gin Ala Pro Leu Thr Val His Asp Ser Lys Leu Ser Ile 130 135 140	•		115					120					125				
Met Gin Ser Gin Ala Pro Leu Thr Val His Asp Ser Lys Leu Ser Ile 130 135 140											• • •						
130 135 140	atg	caa	tca	cag	gcc	ccg	cta	acc	gtg	cac	gac	tcc	aaa	ctt	agc	att	432
	Met	Gln	Ser	Gln	Ala	Pro	Leu	Thr	Val	His	Asp	Ser	Lys	Leu	Ser	Ile	
gcc acc caa gga ccc ctc aca gtg tca gaa gga aag cta gcc ctg caa 480		130	•				135					140					
gcc acc caa gga ccc ctc aca gtg tca gaa gga aag cta gcc ctg caa 480	 							-							•		
·	gcc	acc	caa	gga	ccc	ctc	aca	gtg	tca	gaa	gga	aag	cta	gcc	ctg	caa	480

gcc acc caa gga ccc ctc aca gtg tca gaa gga aag cta gcc ctg caa 480
Ala Thr Gln Gly Pro Leu Thr Val Ser Glu Gly Lys Leu Ala Leu Gln
145 150 155 160

aca tea gge eec etc acc acc acc gat age agt acc ett act atc act 528

Thr	Ser	GI	y Pr	o Le	u Thi	Thr	Thr	Asp	Ser	Sei	Thr	Leu	ı Thi	r Ile	e Thr	
				16	5				170				-	175	.	
gcc	tca	CC	cc	t eta	a act	act	gćc	act	ggt	ago	: ttg	ggo	att	t gac	ttg:	576
Ala	Ser	Pro	Pr	o Lei	ı Thr	Thr	Ala	Thr	Gly	Ser	Leu	Gly	, Ile	e Asp	Leu	
			18	0				185					190)		
													٠			
aaa	gag	cco	at	t tai	t aca	caa	aat	gga	aaa	cta	. gga	cta	aag	tac	ggg	624
Lys	Glu	Pro	116	е Туг	Thr	Gln	Asn	Gly	Lys	Leu	Gly	Leu	Lys	Tyr	Gly	
		195	;			٠	200	•				205				
-																
gct	cct	ttg	cat	gta	aca	gac	gac	cta	aac	act	ttg	acc	gta	gca	act	672
Ala	Pro	Leu	His	Val	Thr	Asp	Asp	Leu	Asn	Thr	Leu	Thr	Val	Ala	Thr	
	210					215					220		:			
					att											720
	Pro	Gly	Val	Thr	Ile	Asn	Asn	Thr	Ser	-	Gln	Thr	Lys	Val		
225			-	÷	230					235	:				240	
gga	800	++~	4 س	+++	ga t	tas	000	<i>a</i>	00+	a.t		.11	1	-4-		70 O
					gat						•	•				768
пТÀ	VI (T	Ten	atà	245	Asp	ber	a I II	a1 3		net	n I I	rea	asn			
				<i>4</i> 40					250		٠.			255		
gga	gga	cta	agg	att	gat	tct	caa	aac	aga	cgc	ctt	ata	ctt	gat	gtt	816
														•	Val	
			260					265					270	_		•
				•												
agt	tat	ccg	ttt	gat	gct	caa	aac	caa	cta	aat	cta	aga	cta	gga	cag	864
Ser '	Tyr	Pro	Phe	Asp	Ala	Gln	Asp	Gln	Lev	Asn	Lev	Are	Len	Glv	Gln	

		275		÷			280					285					
				•													
ggc	cct	ctt	ttt	ata	aac	tca	gcc	cac	aac	ttg	gat	att	aac	tac	aac	912	
Gly	Pro	Leu	Phe	Ile	Asn	Ser	Ala	His	Asn	Leu	Asp	Ile	Asn	Tyr	Asn		
	290					295	•				300						
			-					•	-					•	٠		
aaa	ggc	ett	tac	ttg	ttt	aca	gct	tca	aac	aat	tcc	aaa	aag	ctt	gag	960	
Lys	Gly	Leu	Tyr	Leu	Phe	Thr	Ala	Ser	Asn	Asn	Ser	Lys	Lys	Leu	Glu		
305	-				310					315					320		
					•												
gtt	aac	cta	agc	act	gcc	aag	ggg	ttg	atg	ttt	gac	gct	aca	gcc	ata	1008	
Val	Asn	Leu	Ser	Thr	Ala	Lys	Gly	Leu	Met	Phe	Asp	Ala	Thr	Ala	Ile		
	•			325					330					335			
		•	٠.								٠						
gcc	att	aat	gca	gga	gat	ggg	ctt	gaa	ttt	ggt	tca	cct	aat	gca	cca	1056	
Ala	Ile	Asn	Ala	Gly	Asp	Gly	Leu	Glu	Phe	Gly	Ser	Pro	Asn	Ala	Pro		
•			340					345				•	350	-		•	
aac	aca	aat	CCC	ctc	aaa	aca	aaa	att	ggc	cat	ggc	cta	gaa	·ttt	gat	1104	,
	Thr									-							•
	٠	355			•		360					365			•		
	٠	:	. •				i				٠.		: 54	••.			
tca	aac	aag	gct					•				•	agt	ttt	gac	1152	
	. Asn																
	370			•		375					380		•				
				•													
ago	aca	ggt	gco	att	aca	gta	gga	aac	aaa	aat	aat	; gat	aag	cta	act	1200	
					•										Thr		
Q J J							•		•		•	_	-				

400

395

390

ttg	tgg	acc	aca	cca	gct	cça	tct	cct	aac	tgt	aga	cta	aat	gca	gag	1248
Lev	Trp	Thr	Thr	Pro	Ala	Pro	Ser	Pro	Asn	.Cys	Arg	Leu	Asn	Ala	Glu	
				405					410					415		
•												•				
aaa	gat	gct	aaa	ctc	act	ttg	gtc	tta	aca	aaa	tgt	ggc	agt	caa	ata	1296
Lys	Asp	Ala	Lys	Leu	Thr	Leu	Val	Leu	Thr	Lys	Cys	Gly	Ser	Gln	Ile	
			420					425					430			
					-											
ctt	gct	aca	gtt	tca	gtt	ttg	gct	gtt	aaa	ggc	agt	ttg	gct	cca	ata	1344
Leu	Ala	Thr	Val	Ser	Val	Leu	Ala	Val	Lys	Gly	Ser	Leu	Ala	Pro	İle	
		435			-		440					445				
							•		·							
tct	gga	aca	gtt	caa	agt	gct	cat	ctt	att	ata	aga	ttt	gac	gaa	aat	1392
Ser	Gly	Thr	Val	Gln	Ser	Ala	His	Leu	Ile	Ile	Arg	Phe	Asp	Glu	Asn	
	450					455					460				-	•
											•			•		
gga	gtg	cta	cta	aac	aat	tcc	ttc	ctg	gac	cca	gaa	tat	tgg	aac	ttt	1440
Gly	Val	Leu	Leu	Asn	Asn	Ser	Phe	Leu	Asp	Pro	Glu	Туг	Trp	Asn	Phe	
465					470				-	475					480	
						•		•							•	
aga	aat	gga	gat	ctt.	act	gaa	ggc	aca	gcc	tat	aca	aac	gct	gtt	gga	1488
_Arg	_Asn_	Gly	_Asp_	Leu_	Thr	Glu	Gly	Thr	Ala	Tyr	Thr	Asn	Ala	Val	Gly	•
				485					490				•	495		
					•								•			
ttt	atg	cct	aac	cta	tca	gct	tat	cca	aaa	tct	cac	ggt	aaa	act	gcc	1536
Phe	Met	Pro	Asn	Leu	Ser	Ala	Туг	Pro	Lys	Ser	His	Gly	Lys	Thr	Ala	
			500				•	505					510			

aaa	agt	aac	att	gtc	agt	caa	gtt	tac	tta	aac	gga	gac	aaa	act	aaa	1584		
Lys	Ser	Asn	He	Val	Ser	Gln	Val	Tyr	Leu	Asn	Gly	Asp	Lys	Thr	Lys			
		515			•		520		-			525						
									-									
cct	gta	aca	cta	acc	att	aca	cta	aac	ggt	aca	cag	gaa	aca	gga	gac	1632		
Pro	Val	Thr	Leu	Thr	Ile	Thr	Leu	Asn	Gly	Thr	Gln	Glu	Thr	Gly	Asp			
	530					535					540						•	
		•		-														
aca	act	cca	agt	gca	tac	tct	atg	tca	ttt	tca	tgg	gac	tgg	tct	ggc	1680		
Thr	Thr	Pro	Ser	Ala	Tyr	Ser	Met	Ser	Phe	Ser	Trp	Asp	Trp	Ser	Gly			
545	-	•	·		550	-		-		555			•		560			
cac	aac	tac	att	aat	gaa	ata	ttt	gcc	acc	tcg	agt	tac	act	ttt	tca	1728		
His	Asn	Tyr	Ile	Asn	Glu	Ile	Phe	Ala	Thr	Ser	Ser	Tyr	Thr	Phe	Ser			
				565					570					575				
tac	att	gcc	caa	gaa	ggt	tct	gga	agt	ggt	agt	ggt	tct	ggc	agc	gga	1776		
Туг	Ile	Ala	Gln	Glu	Gly	Ser	Gly	Ser	Gly	Ser	Gly	Ser	Gly	Ser	Gly			
			580					585					590					
				•														
tct	gga	tct	aag	aag	aag	aag	aag	aaa	aag	aag	aaa	aag	aag	aag	aag	1824		
Ser	Gly	Ser	Lys	Lys	Lys	Lys	Lys	Lys	Lys	Lys	Lys	Lys	Lys	Lys	Lys			. •
: •	·	595					600	٠. ٠	72.7		• ".	605						
							•		<u> </u>					•				
aaa	aaa	aag	aag	aag	aaa	aag	aaa	gga	tcc	gcc	gag	aag	aag	gac	gag	1872		
Lys	Lys	Lys	Lys	Lys	Lys	Lys	Lys	Gly	Ser	Ala	Glu	Lys	Lys	Asp	Glu			
	610					615		•			620		•					
									-									

1920

ggc ccc tac agg atg gag cac ttc cgc tgg ggc agc ccg ccc aag gac

Gly Pro Tyr Arg Met Glu His Phe Arg Trp Gly Ser Pro Pro Lys Asp 625 630 635 640

taa 1923

<210> 24

<211> 33

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> DNA coding AS linker

<220>

<221> CDS

<222> (1)..(33)

<400> 24

cca tca gcc tcc gca tct gct tcc gcc cct gga Pro Ser Ala Ser Ala Ser Ala Pro Gly 1

<210> 25

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

10

<223> AS linker peptide

<400> 25

Pro Ser Ala Ser Ala Ser Ala Pro Gly

1

5

10

<210> 26

<211> 33

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> DNA coding GS linker

<220>

<221> CDS

<222> (1)..(33)

<400> 26

ggt tot gga agt ggt agt ggt lol ggc agc gga

Gly Ser Gly Ser Gly Ser Gly Ser Gly

1

5

10

<210> 27

<211> 11

<212> PRT -

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> GS linker peptide

<400> 27

Gly Ser Gly Ser Gly Ser Gly Ser Gly

.1

5

10

<210> 28

<211> 108

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> DNA coding asK21 linker

<220>

<221> CDS

<222> (1)..(108)

<400> 28

cca tca gcc tcc gca tct gct tcc gcc cct gga tct gga tct aag aag 48 Pro Ser Ala Ser Ala Ser Ala Pro Gly Ser Gly Ser Lys Lys

1

5

10

15

aaa aag aaa gga

108

Lys Lys Lys Gly

35

<210> 29

<211> 36

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> asK21 linker peptide

<400> 29

Pro Ser Ala Ser Ala Ser Ala Pro Gly Ser Gly Ser Lys Lys

1

5 .

10

15

20

25

30 ·

Lys Lys Lys Gly

35

. <210> 30

<211> 108

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223 DNA coding gsK21 linker

<220>

<221> CDS

<222> (1)..(108)

<400> 30

ggt tct gga agt ggt agt ggt tct ggc agc gga tct gga tct aag aag 48
Gly Ser Gly Ser Gly Ser Gly Ser Gly Ser Gly Ser Lys Lys

1 5 10 15

aaa aag aaa gga

108

Lys Lys Lys Gly

35

<210> 31

<211> 36

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> gsK21 linker peptide

<400> 31

Gly Ser Gly Ser Gly Ser Gly Ser Gly Ser Gly Ser Lys Lys

5 10 15

20 25 30

Lys Lys Lys Gly

. 35

<210> 32

<211> 605

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> a modified fiber protein encoded in pWE6.7R-F/asMSHa

<400> 32

Met Lys Arg Ala Arg Pro Ser Glu Asp Thr Phe Asn Pro Val Tyr Pro

1

5

10

15

Tyr Asp Thr Glu Thr Gly Pro Pro Thr Val Pro Phe Leu Thr Pro Pro

20

25

30

Phe Val Ser Pro Asn Gly Phe Gln Glu Ser Pro Pro Gly Val Leu Ser

35

40

Leu Arg Leu Ser Glu Pro Leu Val Thr Ser Asn Gly Met Leu Ala Leu Lys Met Gly Asn Gly Leu Ser Leu Asp Glu Ala Gly Asn Leu Thr Ser Gln Asn Val Thr Thr Val Ser Pro Pro Leu Lys Lys Thr Lys Ser Asn Ile Asn Leu Glu Ile Ser Ala Pro Leu Thr Val Thr Ser Glu Ala Leu Thr Val Ala Ala Ala Pro Leu Met Val Ala Gly Asn Thr Leu Thr Met Gln Ser Gln Ala Pro Leu Thr Val His Asp Ser Lys Leu Ser Ile Ala Thr Gln Gly Pro Leu Thr Val Ser Glu Gly Lys Leu Ala Leu Gln Thr Ser Gly Pro Leu Thr Thr Thr Asp Ser Ser Thr Leu Thr Ile Thr

Ala Ser Pro Pro Leu Thr Thr Ala Thr Gly Ser Leu Gly Ile Asp Leu
180 185 190

Lys Glu Pro Ile Tyr Thr Gln Asn Gly Lys Leu Gly Leu Lys Tyr Gly
195 200 205

Gly Pro Gly Val Thr 11e Asn Asn Thr Ser Leu Gln Thr Lys Val Thr 225	Ala	`Pro	Leu	His	Val	Thr	Asp	Asp	Leu	Asn	Thr	Leu	Thr	Val	Ala	Thr	
235		210					215					220					
225 230 235 240 Gly Ala Leu Gly Phe Asp Ser Gln Gly Asn Met Gln Leu Asn Val Ala 245 245 250 250 255 Gly Gly Leu Arg Leu Arg Leu 265 Asp Ser Gln Asn Arg Arg Leu 11e Leu Asp Val 265 270 Val 270 Ser Tyr Pro Phe Asp Ala Gln Asn Gln Leu Asn Leu Arg Leu Gly 270 285 285 285 Gly Pro Leu Phe 11e Asn 295 Ser Ala His Asn Leu Asp Leu Asp 11e Asn Tyr Asn 295 300 285 Lys Gly Leu Tyr Leu Phe 11e Asn 310 Thr Ala Ser Asn Asn Ser Leu Asp Leu Lys Lys Leu Glu 315 320 Val Asn Leu Ser Thr Ala Lys Gly Leu Met Phe Asp Ala Thr Ala 11e								•				-					
Gly Ala Leu Gly Phe Asp Ser Gln Gly Asn Met Gln Leu Asn Val Ala 245	Gly	Pro	Gly	Val	Thr	Ile	Asn	Asn	Thr	Ser	Leu	Gln	Thr	Lys	Val	Thr	
255 257 258 259 255	225					230					235					240	
255 255																	
255 255 255 255 255 255 255 255 255 255 261 261 265 265 270	Gly	Ala	Leu	Gly	Phe	Asp	Ser	Gln	Gly	Asn	Met	Gln	Leu	Asn	Val	Ala	
Gly Gly Leu Arg Ile Asp Ser Gln Asn Arg Arg Leu Ile Leu Asp Val 260 Ser Tyr Pro Phe Asp Ala Gln Asn Gln Leu Asn Leu Arg Leu Gly Gln 275 Gly Pro Leu Phe Ile Asn Ser Ala His Asn Leu Asp Ile Asn Tyr Asn 290 Lys Gly Leu Tyr Leu Phe Thr Ala Ser Asn Asn Ser Lys Lys Leu Glu 305 Val Asn Leu Ser Thr Ala Lys Gly Leu Met Phe Asp Ala Thr Ala Ile	•			•		-			•		•	•-					
Ser Tyr Pro Phe Asp Ala Gln Asn Gln Leu Asn Leu Arg Leu Gly Gln 275					210					200	_				200		
Ser Tyr Pro Phe Asp Ala Gln Asn Gln Leu Asn Leu Arg Leu Gly Gln 275	G1 =	Cl w	Lov	Ana	Tia	Acr	Car.	C1n	Acn	Ana	Ana	I ov	Tla	Low	Aon	Vo I	
Ser Tyr Pro Phe Asp Ala Gln Asn Gln Leu Asn Leu Arg Leu Gly Gln 275	uıy	a13	TGA		116	ush	pe1.	0111		w.g	urg	Lea	116		ush	vai	
275 280 285 287 Color Colo				200					265		•			210			
275 280 285 285 Gly Pro Leu Phe Ile Asn Ser Ala His Asn Leu Asp Ile Asn Tyr Asn 290 295 300 300	•		D	DJ.	•		01		~ 1	-		-			0 1	01	
Gly Pro Leu Phe Ile Asn Ser Ala His Asn Leu Asp Ile Asn Tyr Asn 290	Ser	Tyr		Phe	Asp	Ala	Gļn		Gln	Leu	Asn	Leu		Leu	Gly	Gln	
290 295 300 Lys Gly Leu Tyr Leu Phe Thr Ala Ser Asn Asn Ser Lys Lys Leu Glu 305 310 310 315 320 Val Asn Leu Ser Thr Ala Lys Gly Leu Met Phe Asp Ala Thr Ala Ile			275					280	٠.				285				
290 295 300 Lys Gly Leu Tyr Leu Phe Thr Ala Ser Asn Asn Ser Lys Lys Leu Glu 305 310 310 315 320 Val Asn Leu Ser Thr Ala Lys Gly Leu Met Phe Asp Ala Thr Ala Ile											·	•	•	•		٠.	
Lys Gly Leu Tyr Leu Phe Thr Ala Ser Asn Asn Ser Lys Lys Leu Glu 305 310 315 320 Val Asn Leu Ser Thr Ala Lys Gly Leu Met Phe Asp Ala Thr Ala Ile	Gly	Pro	Leu	Phe	Ile	Asn	Ser	Ala	His	Asn	Leu	Asp	Ile	Asn	Tyr	Asn	
305 310 315 320 Val Asn Leu Ser Thr Ala Lys Gly Leu Met Phe Asp Ala Thr Ala Ile		290					295					300			•		
305 310 315 320 Val Asn Leu Ser Thr Ala Lys Gly Leu Met Phe Asp Ala Thr Ala Ile							٠										
Val Asn Leu Ser Thr Ala Lys Gly Leu Met Phe Asp Ala Thr Ala Ile	Lys	Gly	Leu	Tyr	Leu.	Phe	Thr	Λla	Ser	Asn	۸sn	Ser	Ľуs	Lys	Leu	Glu	
Val Asn Leu Ser Thr Ala Lys Gly Leu Met Phe Asp Ala Thr Ala Ile	305					310			ē		315					320	
	-																
	Val	Asn	Leu	Ser	Thr	Ala	Lys	Gly	Leu	Met	Phe	Asp	Ala	Thr	Ala	Ile	
325 330 335											•			-	•		<u>.</u>

Ala Ile Asn Ala Gly Asp Gly Leu Glu Phe Gly Ser Pro Asn Ala Pro 340 345 350

Asn Thr Asn Pro Leu Lys Thr Lys Ile Gly His Gly Leu Glu Phe Asp

Ser Asn Lys Ala Met Val Pro Lys Leu Gly Thr Gly Leu Ser Phe Asp Ser Thr Gly Ala Ile Thr Val Gly Asn Lys Asn Asn Asp Lys Leu Thr .395 Leu Trp Thr Thr Pro Ala Pro Ser Pro Asn Cys Arg Leu Asn Ala Glu Lys Asp Ala Lys Leu Thr Leu Val Leu Thr Lys Cys Gly Ser Gln Ile Leu Ala Thr Val Ser Val Leu Ala Val Lys Gly Ser Leu Ala Pro Ile Ser Gly Thr Val Gln Ser Ala His Leu Ile Ile Arg Phe Asp Glu Asn Gly Val Leu Leu Asn Asn Ser Phe Leu Asp Pro Glu Tyr Trp Asn Phe Arg Asn Gly Asp Leu Thr Glu Gly Thr Ala Tyr Thr Asn Ala Val Gly

500 505 510

Phe Met Pro Asn Leu Ser Ala Tyr Pro Lys Ser His Gly Lys Thr Ala

Lys Ser Asn Ile Val Ser Gln Val Tyr Leu Asn Gly Asp Lys Thr Lys
515 520 525

Pro Val Thr Leu Thr Ile Thr Leu Asn Gly Thr Gln Glu Thr Gly Asp
530 535 540

Thr Thr Pro Ser Ala Tyr Ser Met Ser Phe Ser Trp Asp Trp Ser Gly 545 550 555 560

His Asn Tyr Ile Asn Glu Ile Phe Ala Thr Ser Ser Tyr Thr Phe Ser 565 570 575

Tyr Ile Ala Glu Glu Pro Ser Ala Ser Ala Ser Ala Ser Ala Pro Gly
580 585 590

Ser Tyr Ser Met Glu His Phe Arg Trp Gly Lys Pro Val
595 600 605

<210> 33

<211> 615

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> a modified fiber protein encoded in pWE6.7R-F/asMSHb

<400> 33

Met Lys Arg Ala Arg Pro Ser Glu Asp Thr Phe Asn Pro Val Tyr Pro

1 5 10 15

Tyr Asp Thr Glu Thr Gly Pro Pro Thr Val Pro Phe Leu Thr Pro Pro
20 25 30

Phe Val Ser Pro Asn Gly Phe Gln Glu Ser Pro Pro Gly Val Leu Ser

35 40 45

Leu Arg Leu Ser Glu Pro Leu Val Thr Ser Asn Gly Met Leu Ala Leu
50 55 60

Lys Met Gly Asn Gly Leu Ser Leu Asp Glu Ala Gly Asn Leu Thr Ser 65 70 75 80

Gln Asn Val Thr Thr Val Ser Pro Pro Leu Lys Lys Thr Lys Ser Asn 85 90 95

Ile Asn Leu Glu Ile Ser Ala Pro Leu Thr Val Thr Ser Glu Ala Leu 100 105 110

Thr Val Ala Ala Ala Pro Leu Met Val Ala Gly Asn Thr Leu Thr
115 120 125

Met Gln Ser Gln Ala Pro Leu Thr Val His Asp Ser Lys Leu Ser Ile 130 135 140

Ala Thr Gln Gly Pro Leu Thr Val Ser Glu Gly Lys Leu Ala Leu Gln 145 150 155 160

Thr	Ser	Gly	Pro	Leu	Thr	Thr	Thr	Asp	Ser	Ser	Thr	Leu	Thr	Ile	Thr
				165					170					175	
			•	÷											-
Ala	Ser	Pro	Pro	Leu	Thr	Thr	Ala	Thr	Gly	Ser	Leu	Gly	Ile	Asp	Leu
	•		180					185				-	190		
	0 1		`T1_	m	ml	01	4	O1	7	T	C1	Lou	Ia	Tım	C1
Lys	Glu		116	1 yr	Inr	Gin		GIZ	ГÀЗ	Leu			Lys	TYP	GIÀ
		195					200					205			
Ala	Pro	Leu	His	Val	Thr	Asp	Asp	Leu	Asn	Thr	Leu	Thr	Val	Ala	Thr
	210					215	-				220				
	210														
Gly	Pro	Gly	Val	Thr	Ile	Asn	Asn	Thr	Ser	Leu	Gln	Thr	Lys	Va1	Thr
225					230					235					240
Gly	Ala	Leu	Gly	Phe	Asp	Ser	Gln	Gly	Asn	Met	Gln	Leu	Asn		Ala
			•	245			•		250		•			255	
C1	c1	Lon	Ana	Πο	lan	Con	Gln	Aen	Arø	Aro	I AII	Tla	Leu	Asn	Va l
G13	all	ь с и			уSh	OCI	UIH			иге	. DCu	. 110	270	иор	14.
			260					265					LIU		
Ser	Tyr	Pro	Phe	Asp	Ala	Gln	Asn	Gln	Leu	Asn	Leu	Arg	Leu	Gly	Gli
		275					280					285			
		· ·		-											

305 310 315 320

Lys Gly Leu Tyr Leu Phe Thr Ala Ser Asn Asn Ser Lys Lys Leu Glu

Gly Pro Leu Phe Ile Asn Ser Ala His Asn Leu Asp Ile Asn Tyr Asn

295

290

4

Val Asn Leu Ser Thr Ala Lys Gly Leu Met Phe Asp Ala Thr Ala Ile
325 330 335

Ala Ile Asn Ala Gly Asp Gly Leu Glu Phe Gly Ser Pro Asn Ala Pro
340 345 350

Asn Thr Asn Pro Leu Lys Thr Lys Ile Gly His Gly Leu Glu Phe Asp 355 360 365

Ser Asn Lys Ala Met Val Pro Lys Leu Gly Thr Gly Leu Ser Phe Asp 370 375 380

Ser Thr Gly Ala IIe Thr Val Gly Asn Lys Asn Asn Asp Lys Leu Thr 385 390 395 400

Leu Trp Thr Thr Pro Ala Pro Ser Pro Asn Cys Arg Leu Asn Ala Glu
405 410 415

Lys Asp Ala Lys Leu Thr Leu Val Leu Thr Lys Cys Gly Ser Gln Ile
420 425 430

Leu Ala Thr Val Ser Val Leu Ala Val Lys Gly Ser Leu Ala Pro Ile
435
440
445

Ser Gly Thr Val Gln Ser Ala His Leu Ile Ile Arg Phe Asp Glu Asn 450 455 460

Gly Val Leu Leu Asn Asn Ser Phe Leu Asp Pro Glu Tyr Trp Asn Phe

Arg Asn Gly Asp Leu Thr Glu Gly Thr Ala Tyr Thr Asn Ala Val Gly Phe Met Pro Asn Leu Ser Ala Tyr Pro Lys Ser His Gly Lys Thr Ala Lys Ser Asn Ile Val Ser Gln Val Tyr Leu Asn Gly Asp Lys Thr Lys Pro Val Thr Leu Thr Ile Thr Leu Asn Gly Thr Gln Glu Thr Gly Asp Thr Thr Pro Ser Ala Tyr Ser Met Ser Phe Ser Trp Asp Trp Ser Gly His Asn Tyr Ile Asn Glu Ile Phe Ala Thr Ser Ser Tyr Thr Phe Ser · Tyr lle Ala Gln Glu Pro Ser Ala Ser Ala Ser Ala Ser Ala Pro Gly

Ser Ala Glu Lys Lys Asp Glu Gly Pro Tyr Arg Met Glu His Phe Arg
595 600 605

Trp Gly Ser Pro Pro Lys Asp
610 615

<210> 34

<211> 605

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> a modified fiber protein encoded in pWE6.7R-F/gsMSHa

<400> 34

Met Lys Arg Ala Arg Pro Ser Glu Asp Thr Phe Asn Pro Val Tyr Pro

1 5 10 15

Tyr Asp Thr Glu Thr Gly Pro Pro Thr Val Pro Phe Leu Thr Pro Pro
20 25 30

Phe Val Ser Pro Asn Gly Phe Gln Glu Ser Pro Pro Gly Val Leu Ser

35 40 45

Leu Arg Leu Ser Glu Pro Leu Val Thr Ser Asn Gly Met Leu Ala Leu
50 55 60

Lys Met Gly Asn Gly Leu Ser Leu Asp Glu Ala Gly Asn Leu Thr Ser

65 70 75 80

Gln Asn Val Thr Thr Val Ser Pro Pro Leu Lys Lys Thr Lys Ser Asn 85 90 95

Ile Asn Leu Glu Ile Ser Ala Pro Leu Thr Val Thr Ser Glu Ala Leu

100

105

110

Thr Val Ala Ala Ala Pro Leu Met Val Ala Gly Asn Thr Leu Thr
115 120 125

Met Gln Ser Gln Ala Pro Leu Thr Val His Asp Ser Lys Leu Ser Ile 130 135 140

Ala Thr Gln Gly Pro Leu Thr Val Ser Glu Gly Lys Leu Ala Leu Gln
145 150 155 160

Thr Ser Gly Pro Leu Thr Thr Thr Asp Ser Ser Thr Leu Thr Ile Thr
165 170 175

Ala Ser Pro Pro Leu Thr Thr Ala Thr Gly Ser Leu Gly Ile Asp Leu 180 185 190

Lys Glu Pro Ile Tyr Thr Gln Asn Gly Lys Leu Gly Leu Lys Tyr Gly
195 200 205

Ala Pro Leu His Val Thr Asp Asp Leu Asn Thr Leu Thr Val Ala Thr
210 215 220

Gly Pro Gly Val Thr Ile Asn Asn Thr Ser Leu Gln Thr Lys Val Thr
225 230 235 240

Gly Ala Leu Gly Phe Asp Ser Gln Gly Asn Met Gln Leu Asn Val Ala 245 250 255 Gly Gly Leu Arg Ile Asp Ser Gln Asn Arg Arg Leu Ile Leu Asp Val 260 265 270

Ser Tyr Pro Phe Asp Ala Gln Asn Gln Leu Asn Leu Arg Leu Gly Gln
275
280
285

Gly Pro Leu Phe IIe Asn Ser Ala His Asn Leu Asp IIe Asn Tyr Asn 290 295 300

Lys Gly Leu Tyr Leu Phe Thr Ala Ser Asn Asn Ser Lys Lys Leu Glu 305 310 315 320

Val Asn Leu Ser Thr Ala Lys Gly Leu Met Phe Asp Ala Thr Ala Ile
325 330 335

Ala lle Asn Ala Gly Asp Gly Leu Glu Phe Gly Ser Pro Asn Ala Pro 340 345 350

Asn Thr Asn Pro Leu Lys Thr Lys Ile Gly His Gly Leu Glu Phe Asp
355 360 365

Ser Asn Lys Ala Met Val Pro Lys Leu Gly Thr Gly Leu Ser Phe Asp 370 375 380

Ser Thr Gly Ala Ile Thr Val Gly Asn Lys Asn Asn Asp Lys Leu Thr 385 390 395 400

Leu Trp Thr Thr Pro Ala Pro Ser Pro Asn Cys Arg Leu Asn Ala Glu
405 410 415

Lys Asp Ala Lys Leu Thr Leu Val Leu Thr Lys Cys Gly Ser Gln Ile 420 425 430 Leu Ala Thr Val Ser Val Leu Ala Val Lys Gly Ser Leu Ala Pro Ile 435 440 445 Ser Gly Thr Val Gln Ser Ala His Leu Ile Ile Arg Phe Asp Glu Asn 450 455 · 460 Gly Val Leu Leu Asn Asn Ser Phe Leu Asp Pro Glu Tyr Trp Asn Phe 465 470 475 480 Arg Asn Gly Asp Leu Thr Glu Gly Thr Ala Tyr Thr Asn Ala Val Gly 495 485 490 Phe Met Pro Asn Leu Ser Ala Tyr Pro Lys Ser His Gly Lys Thr Ala **500** 505 510

Lys Ser Asn Ile Val Ser Gln Val Tyr Leu Asn Gly Asp Lys Thr Lys
515 520 525

Pro Val Thr Leu Thr Ile Thr Leu Asn Gly Thr Gln Glu Thr Gly Asp

530 540

Thr Thr Pro Ser Ala Tyr Ser Met Ser Phe Ser Trp Asp Trp Ser Gly 545 550 555 560

His Asn Tyr Ile Asn Glu Ile Phe Ala Thr Ser Ser Tyr Thr Phe Ser

565

570

575

Tyr Ile Ala Glu Glu Gly Ser Gl

Ser Tyr Ser Met Glu His Phe Arg Trp Gly Lys Pro Val
595 600 605

<210> 35

<211> 615

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> a modified fiber protein encoded in pWE6.7R-F/gsMSHb

<400> 35

Met Lys Arg Ala Arg Pro Ser Glu Asp Thr Phe Asn Pro Val Tyr Pro

1 5 10 15

Tyr Asp Thr Glu Thr Gly Pro Pro Thr Val Pro Phe Leu Thr Pro Pro
20 25 30

Phe Val Ser Pro Asn Gly Phe Gln Glu Ser Pro Pro Gly Val Leu Ser

35 40 45

Leu Arg Leu Ser Glu Pro Leu Val Thr Ser Asn Gly Met Leu Ala Leu 50 55 60

Lys Met Gly Asn Gly Leu Ser Leu Asp Glu Ala Gly Asn Leu Thr Ser . Gln Asn Val Thr Thr Val Ser Pro Pro Leu Lys Lys Thr Lys Ser Asn Ile Asn Leu Glu Ile Ser Ala Pro Leu Thr Val Thr Ser Glu Ala Leu Thr Val Ala Ala Ala Ala Pro Leu Met Val Ala Gly Asn Thr Leu Thr Met Gln Ser Gln Ala Pro Leu Thr Val His Asp Ser Lys Leu Ser Ile Ala Thr Gln Gly Pro Leu Thr Val Ser Glu Gly Lys Leu Ala Leu Gln Thr Ser Gly Pro Leu Thr Thr Asp Ser Ser Thr Leu Thr Ile Thr Ala Ser Pro Pro Leu Thr Thr Ala Thr Gly Ser Leu Gly Ile Asp Leu Lys Glu Pro Ile Tyr Thr Gln Asn Gly Lys Leu Gly Leu Lys Tyr Gly

Ala Pro Leu His Val Thr Asp Asp Leu Asn Thr Leu Thr Val Ala Thr

210 ·

215

220

Gly Pro Gly Val Thr Ile Asn Asn Thr Ser Leu Gln Thr Lys Val Thr
225 230 235 240
Gly Ala Leu Gly Phe Asp Ser Gln Gly Asn Met Gln Leu Asn Val Ala

245 250 255

Gly Gly Leu Arg Ile Asp Ser Gln Asn Arg Arg Leu Ile Leu Asp Val 260 265 270

Ser Tyr Pro Phe Asp Ala Gln Asn Gln Leu Asn Leu Arg Leu Gly Gln 275 280 285

Gly Pro Leu Phe Ile Asn Ser Ala His Asn Leu Asp Ile Asn Tyr Asn 290 295 300

Lys Gly Leu Tyr Leu Phe Thr Ala Ser Asn Asn Ser Lys Lys Leu Glu 305 310 315 320

Val Asn Leu Ser Thr Ala Lys Gly Leu Met Phe Asp Ala Thr Ala Ile

325 330 335

Ala Ile Asn Ala Gly Asp Gly Leu Glu Phe Gly Ser Pro Asn Ala Pro
340 345 350

Asn Thr Asn Pro Leu Lys Thr Lys Ile Gly His Gly Leu Glu Phe Asp
355 360 365

Ser Asn Lys Ala Met Val Pro Lys Leu Gly Thr Gly Leu Ser Phe Asp 370 375 380

Ser Thr Gly Ala Ile Thr Val Gly Asn Lys Asn Asn Asp Lys Leu Thr 385 390 395 400

Leu Trp Thr Thr Pro Ala Pro Ser Pro Asn Cys Arg Leu Asn Ala Glu
405 410 415

Lys Asp Ala Lys Leu Thr Leu Val Leu Thr Lys Cys Gly Ser Gln IIe
420 425 430

Leu Ala Thr Val Ser Val Leu Ala Val Lys Gly Ser Leu Ala Pro Ile 435 440 445

Ser Gly Thr Val Gln Ser Ala His Leu Ile Ile Arg Phe Asp Glu Asn 450 455 460

Gly Val Leu Leu Asn Asn Ser Phe Leu Asp Pro Glu Tyr Trp Asn Phe
465 470 475 480

Arg Asn Gly Asp Leu Thr Glu Gly Thr Ala Tyr Thr Asn Ala Val Gly
485 490 495

Phe Met Pro Asn Leu Ser Ala Tyr Pro Lys Ser His Gly Lys Thr Ala
500 505 510

Lys Ser Asn Ile Val Ser Gln Val Tyr Leu Asn Gly Asp Lys Thr Lys
515 520 525

Pro Val Thr Leu Thr Ile Thr Leu Asn Gly Thr Gln Glu Thr Gly Asp
530 535 540

Thr Thr Pro Ser Ala Tyr Ser Met Ser Phe Ser Trp Asp Trp Ser Gly
545 550 555 560

His Asn Tyr Ile Asn Glu Ile Phe Ala Thr Ser Ser Tyr Thr Phe Ser 565 570 575

Tyr Ile Ala Gln Glu Gly Ser Gl

Ser Ala Glu Lys Lys Asp Glu Gly Pro Tyr Arg Met Glu His Phe Arg 595 600 605

Trp Gly Ser Pro Pro Lys Asp 610 615

<210> 36

<211> 630

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> a modified fiber protein encoded in pWE6.7R-F/asK21MSHa

<400> 36

Met Lys Arg Ala Arg Pro Ser Glu Asp Thr Phe Asn Pro Val Tyr Pro

1 5 10 15

Tyr Asp Thr Glu Thr Gly Pro Pro Thr Val Pro Phe Leu Thr Pro Pro
20 25 30

Phe Val Ser Pro Asn Gly Phe Gln Glu Ser Pro Pro Gly Val Leu Ser

35 40 45

Leu Arg Leu Ser Glu Pro Leu Val Thr Ser Asn Gly Met Leu Ala Leu
50 55 60

Lys Met Gly Asn Gly Leu Ser Leu Asp Glu Ala Gly Asn Leu Thr Ser
65 70 75 80

Gin Asn Val Thr Thr Val Ser Pro Pro Leu Lys Lys Thr Lys Ser Asn 85 90 95

Ile Asn Leu Glu Ile Ser Ala Pro Leu Thr Val Thr Ser Glu Ala Leu 100 105 110

Thr Val Ala Ala Ala Ala Pro Leu Met Val Ala Gly Asn Thr Leu Thr
115 120 125

Met Gln Ser Gln Ala Pro Leu Thr Val His Asp Ser Lys Leu Ser Ile 130 135 140

Ala Thr Gln Gly Pro Leu Thr Val Ser Glu Gly Lys Leu Ala Leu Gln
145 150 155 160

Thr Ser Gly Pro Leu Thr Thr Asp Ser Ser Thr Leu Thr Ile Thr
165 170 175

Ala Ser Pro Pro Leu Thr Thr Ala Thr Gly Ser Leu Gly Ile Asp Leu 180 185 190

Lys Glu Pro Ile Tyr Thr Gln Asn Gly Lys Leu Gly Leu Lys Tyr Gly
195 200 205

Ala Pro Leu His Val Thr Asp Asp Leu Asn Thr Leu Thr Val Ala Thr 210 215 220

Gly Pro Gly Val Thr Ile Asn Asn Thr Ser Leu Gln Thr Lys Val Thr
225 230 235 240

Gly Ala Leu Gly Phe Asp Ser Gln Gly Asn Met Gln Leu Asn Val Ala 245 250 255

Gly Gly Leu Arg Ile Asp Ser Gln Asn Arg Arg Leu Ile Leu Asp Val 260 265 270

Ser Tyr Pro Phe Asp Ala Gln Asn Gln Leu Asn Leu Arg Leu Gly Gln
275 280 285

Gly Pro Leu Phe Ile Asn Ser Ala His Asn Leu Asp Ile Asn Tyr Asn 290 295 300

Lys Gly Leu Tyr Leu Phe Thr Ala Ser Asn Asn Ser Lys Lys Leu Glu

Val Asn Leu Ser Thr Ala Lys Gly Leu Met Phe Asp Ala Thr Ala Ile Ala Ile Asn Ala Gly Asp Gly Leu Glu Phe Gly Ser Pro Asn Ala Pro Asn Thr Asn Pro Leu Lys Thr Lys Ile Gly His Gly Leu Glu Phe Asp Ser Asn Lys Ala Met Val Pro Lys Leu Gly Thr Gly Leu Ser Phe Asp Ser Thr Gly Ala Ile Thr Val Gly Asn Lys Asn Asn Asp Lys Leu Thr 00 Leu Trp Thr Thr Pro Ala Pro Ser Pro Asn Cys Arg Leu Asn Ala Glu Lys Asp Ala Lys Leu Thr Leu Val Leu Thr Lys Cys Gly Ser Gln Ile

Leu Ala Thr Val Ser Val Leu Ala Val Lys Gly Ser Leu Ala Pro Ile 435 440 445

Ser Gly Thr Val Gln Ser Ala His Leu Ile Ile Arg Phe Asp Glu Asn 450 455 460

Gly Val Leu Leu Asn Asn Ser Phe Leu Asp Pro Glu Tyr Trp Asn Phe
465 470 475 480

Arg Asn Gly Asp Leu Thr Glu Gly Thr Ala Tyr Thr Asn Ala Val Gly
485 490 495

Phe Met Pro Asn Leu Ser Ala Tyr Pro Lys Ser His Gly Lys Thr Ala
500 505 510

Lys Ser Asn Ile Val Ser Gln Val Tyr Leu Asn Gly Asp Lys Thr Lys
515 520 525

Pro Val Thr Leu Thr Ile Thr Leu Asn Gly Thr Gln Glu Thr Gly Asp 530 535 540

Thr Thr Pro Ser Ala Tyr Ser Met Scr Phe Scr Trp Asp Trp Ser Gly
545 550 555 560

His Asn Tyr Ile Asn Glu Ile Phe Ala Thr Ser Ser Tyr Thr Phe Ser 565 570 575

Tyr Ile Ala Gln Glu Pro Ser Ala Ser Ala Ser Ala Ser Ala Pro Gly
580 585 590

Lys Lys Lys Lys Lys Lys Gly Ser Tyr Ser Met Glu His Phe 610 615 620 Arg Trp Gly Lys Pro Val

625

630

<210> 37

<211> 630

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

20

<220>

<223> a modified fiber protein encoded in pWE6.7R-F/gsK21MSHa

<400> 37

Met Lys Arg Ala Arg Pro Ser Glu Asp Thr Phe Asn Pro Val Tyr Pro

1 5 10 15

Tyr Asp Thr Glu Thr Gly Pro Pro Thr Val Pro Phe Leu Thr Pro Pro

Phe Val Ser Pro Asn Gly Phe Gln Glu Ser Pro Pro Gly Val Leu Ser

35 40 45

Leu Arg Leu Ser Glu Pro Leu Val Thr Ser Asn Gly Met Leu Ala Leu 50 55 60

Lys Met Gly Asn Gly Leu Ser Leu Asp Glu Ala Gly Asn Leu Thr Ser 65 70 75 80

30

Gln Asn Val Thr Thr Val Ser Pro Pro Leu Lys Lys Thr Lys Ser Asn lle Asn Leu Glu Ile Ser Ala Pro Leu Thr Val Thr Ser Glu Ala Leu Thr Val Ala Ala Ala Ala Pro Leu Met Val Ala Gly Asn Thr Leu Thr Met Gln Ser Gln Ala Pro Leu Thr Val His Asp Ser Lys Leu Ser Ile Ala Thr Gln Gly Pro Leu Thr Val Ser Glu Gly Lys Leu Ala Leu Gln Thr Ser Gly Pro Leu Thr Thr Thr Asp Ser Ser Thr Leu Thr Ile Thr Ala Ser Pro Pro Leu Thr Thr Ala Thr Gly Ser Leu Gly Ile Asp Leu Lys Glu Pro Ile Tyr Thr Gln Asn Gly Lys Leu Gly Leu Lys Tyr Gly

Ala Pro Leu His Val Thr Asp Asp Leu Asn Thr Leu Thr Val Ala Thr
210 215 220

Gly Pro Gly Val Thr Ile Asn Asn Thr Ser Leu Gln Thr Lys Val Thr
225 230 235 240

Gly Ala Leu Gly Phe Asp Ser Gln Gly Asn Met Gln Leu Asn Val Ala
245 250 255

Gly Gly Leu Arg Ile Asp Ser Gln Asn Arg Arg Leu Ile Leu Asp Val 260 265 270

Ser Tyr Pro Phe Asp Ala Gln Asn Gln Leu Asn Leu Arg Leu Gly Gln 275 280 285

Gly Pro Leu Phe Ile Asn Ser Ala His Asn Leu Asp Ile Asn Tyr Asn 290 295 300

Lys Gly Leu Tyr Leu Phe Thr Ala Ser Asn Asn Ser Lys Lys Leu Glu 305 310 315 320

Val Asn Leu Ser Thr Ala Lys Gly Leu Met Phe Asp Ala Thr Ala Ile
325 330 335

Ala Ile Asn Ala Gly Asp Gly Leu Glu Phe Gly Ser Pro Asn Ala Pro
340 345 350

Asn Thr Asn Pro Leu Lys Thr Lys Ile Gly His Gly Leu Glu Phe Asp
355 360 365

Ser Asn Lys Ala Met Val Pro Lys Leu Gly Thr Gly Leu Ser Phe Asp 370 375 380

Ser Thr Gly Ala Ile Thr Val Gly Asn Lys Asn Asn Asp Lys Leu Thr

385

390

395

400

Leu Trp Thr Thr Pro Ala Pro Ser Pro Asn Cys Arg Leu Asn Ala Glu
405 410 415

Lys Asp Ala Lys Leu Thr Leu Val Leu Thr Lys Cys Gly Ser Gln 11e 420 425 430

Leu Ala Thr Val Ser Val Leu Ala Val Lys Gly Ser Leu Ala Pro Ile 435 440 445

Ser Gly Thr Val Gln Ser Ala His Leu Ile Ile Arg Phe Asp Glu Asn 450 455 460

Gly Val Leu Leu Asn Asn Ser Phe Leu Asp Pro Glu Tyr Trp Asn Phe
465 470 475 480

Arg Asn Gly Asp Leu Thr Glu Gly Thr Ala Tyr Thr Asn Ala Val Gly
485
490
495

Phe Met Pro Asn Leu Ser Ala Tyr Pro Lys Ser His Gly Lys Thr Ala

500 505 510

Lys Ser Asn Ile Val Ser Gln Val Tyr Leu Asn Gly Asp Lys Thr Lys
515 520 525

Pro Val Thr Leu Thr Ile Thr Leu Asn Gly Thr Gln Glu Thr Gly Asp
530 535 540

Thr Thr Pro Ser Ala Tyr Ser Met Ser Phe Ser Trp Asp Trp Ser Gly
545 550 555 560

His Asn Tyr Ile Asn Glu Ile Phe Ala Thr Ser Ser Tyr Thr Phe Ser 565 570 575

Tyr Ile Ala Gln Glu Gly Ser Gl

Lys Lys Lys Lys Lys Lys Gly Ser Tyr Ser Met Glu His Phe 610 615 620

Arg Trp Gly Lys Pro Val 625 630

<210> 38

<211> 640

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> a modified fiber protein encoded in pWE6.7R-F/asK21MSHb

<400> 38

Met Lys Arg Ala Arg Pro Ser Glu Asp Thr Phe Asn Pro Val Tyr Pro

1

5

10

. 15 -

Tyr Asp Thr Glu Thr Gly Pro Pro Thr Val Pro Phe Leu Thr Pro Pro
20 25 30

Phe Val Ser Pro Asn Gly Phe Gln Glu Ser Pro Pro Gly Val Leu Ser

35 40 45

Leu Arg Leu Ser Glu Pro Leu Val Thr Ser Asn Gly Met Leu Ala Leu
50 55 60

Lys Met Gly Asn Gly Leu Ser Leu Asp Glu Ala Gly Asn Leu Thr Ser 65 70 75 80

Gln Asn Val Thr Thr Val Ser Pro Pro Leu Lys Lys Thr Lys Ser Asn 85 90 95

Ile Asn Leu Glu Ile Ser Ala Pro Leu Thr Val Thr Ser Glu Ala Leu
100 105 110

Thr Val Ala Ala Ala Pro Leu Met Val Ala Gly Asn Thr Leu Thr

115 120 125

Met Gln Ser Gln Ala Pro Leu Thr Val His Asp Ser Lys Leu Ser Ile 130 135 140

Ala Thr Gln Gly Pro Leu Thr Val Ser Glu Gly Lys Leu Ala Leu Gln 145 150 155 160 Thr Ser Gly Pro Leu Thr Thr Thr Asp Ser Ser Thr Leu Thr Ile Thr
165 170 175

Ala Ser Pro Pro Leu Thr Thr Ala Thr Gly Ser Leu Gly Ile Asp Leu
180 185 190

Lys Glu Pro Ile Tyr Thr Gln Asn Gly Lys Leu Gly Leu Lys Tyr Gly
195 200 205

Ala Pro Leu His Val Thr Asp Asp Leu Asn Thr Leu Thr Val Ala Thr
210 215 220

Gly Pro Gly Val Thr Ile Asn Asn Thr Ser Leu Gln Thr Lys Val Thr 225 230 235 240

Gly Ala Leu Gly Phe Asp Ser Gln Gly Asn Met Gln Leu Asn Val Ala
245 250 255

Gly Gly Leu Arg Ile Asp Ser Gln Asn Arg Arg Leu Ile Leu Asp Val 260 265 270

Ser Tyr Pro Phe Asp Ala Gln Asn Gln Leu Asn Leu Arg Leu Gly Gln
275
280
285

Gly Pro Leu Phe Ile Asn Ser Ala His Asn Leu Asp Ile Asn Tyr Asn 290 295 300

Lys Gly Leu Tyr Leu Phe Thr Ala Ser Asn Asn Ser Lys Lys Leu Glu 305 310 315 320

Val Asn Leu Ser Thr Ala Lys Gly Leu Met Phe Asp Ala Thr Ala Ile
325 330 335

Ala Ile Asn Ala Gly Asp Gly Leu Glu Phe Gly Ser Pro Asn Ala Pro
340 345 350

Asn Thr Asn Pro Leu Lys Thr Lys Ile Gly His Gly Leu Glu Phe Asp 355 360 365

Ser Asn Lys Ala Met Val Pro Lys Leu Gly Thr Gly Leu Ser Phe Asp 370 375 380

Ser Thr Gly Ala Ile Thr Val Gly Asn Lys Asn Asn Asp Lys Leu Thr 385 390 395 400

Leu Trp Thr Thr Pro Ala Pro Ser Pro Asn Cys Arg Leu Asn Ala Glu
405 410 415

Lys Asp Ala Lys Leu Thr Leu Val Leu Thr Lys Cys Gly Ser Gln Ile 420 425 430

Leu Ala Thr Val Ser Val Leu Ala Val Lys Gly Ser Leu Ala Pro Ile 435 440 445

Ser Gly Thr Val Gln Ser Ala His Leu Ile Ile Arg Phe Asp Glu Asn 450 455 460

Gly Val Leu Leu Asn Asn Ser Phe Leu Asp Pro Glu Tyr Trp Asn Phe

465 470 475 480

Arg Asn Gly Asp Leu Thr Glu Gly Thr Ala Tyr Thr Asn Ala Val Gly
485 490 495

Phe Met Pro Asn Leu Ser Ala Tyr Pro Lys Ser His Gly Lys Thr Ala
500 505 510

Lys Ser Asn Ile Val Ser Gln Val Tyr Leu Asn Gly Asp Lys Thr Lys
515 520 525

Pro Val Thr Leu Thr Ile Thr Leu Asn Gly Thr Gln Glu Thr Gly Asp
530 535 540

Thr Thr Pro Ser Ala Tyr Ser Met Ser Phe Ser Trp Asp Trp Ser Gly
545 550 555 560

His Asn Tyr Ile Asn Glu Ile Phe Ala Thr Ser Ser Tyr Thr Phe Ser 565 570 575

Tyr Ile Ala Gln Glu Pro Ser Ala Ser Ala Ser Ala Ser Ala Pro Gly
580 585 590

Lys Lys Lys Lys Lys Lys Gly Ser Ala Glu Lys Lys Asp Glu 610 615 620

Gly Pro Tyr Arg Met Glu His Phe Arg Trp Gly Ser Pro Pro Lys Asp 625 630 635 640

<210> 39

<211> 640

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> a modified fiber protein encoded in pWE6.7R-F/gsK21MSHb

<400> 39

Met Lys Arg Ala Arg Pro Ser Glu Asp Thr Phe Asn Pro Val Tyr Pro

1 5 10 15

Tyr Asp Thr Glu Thr Gly Pro Pro Thr Val Pro Phe Leu Thr Pro Pro
20 25 30

Phe Val Ser Pro Asn Gly Phe Gln Glu Ser Pro Pro Gly Val Leu Ser

35 40 45

Leu Arg Leu Ser Glu Pro Leu Val Thr Ser Asn Gly Met Leu Ala Leu
50 55 60

Lys Met Gly Asn Gly Leu Ser Leu Asp Glu Ala Gly Asn Leu Thr Ser 65 70 75 80

Gln Asn Val Thr Thr Val Ser Pro Pro Leu Lys Lys Thr Lys Ser Asn

85 90 95

Ile Asn Leu Glu Ile Ser Ala Pro Leu Thr Val Thr Ser Glu Ala Leu 100 105 110

Thr Val Ala Ala Ala Ala Pro Leu Met Val Ala Gly Asn Thr Leu Thr
115 120 125

Met Gln Ser Gln Ala Pro Leu Thr Val His Asp Ser Lys Leu Ser Ile 130 135 140

Ala Thr Gln Gly Pro Leu Thr Val Ser Glu Gly Lys Leu Ala Leu Gln 145 150 155 160

Thr Ser Gly Pro Leu Thr Thr Thr Asp Ser Ser Thr Leu Thr Ile Thr
165 170 175

Ala Ser Pro Pro Leu Thr Thr Ala Thr Gly Ser Leu Gly Ile Asp Leu
180 185 190

Lys Glu Pro Ile Tyr Thr Gln Asn Gly Lys Leu Gly Leu Lys Tyr Gly
195 200 205

Ala Pro Leu His Val Thr Asp Asp Leu Asn Thr Leu Thr Val Ala Thr
210 215 220

Gly Pro Gly Val Thr Ile Asn Asn Thr Ser Leu Gln Thr Lys Val Thr 225 230 235 240

Gly Ala Leu Gly Phe Asp Ser Gln Gly Asn Met Gln Leu Asn Val Ala
245 250 255

Gly Gly Leu Arg Ile Asp Ser Gln Asn Arg Arg Leu Ile Leu Asp Val 260 265 270

Ser Tyr Pro Phe Asp Ala Gln Asn Gln Leu Asn Leu Arg Leu Gly Gln 275 280 285

Gly Pro Leu Phe Ile Asn Ser Ala His Asn Leu Asp Ile Asn Tyr Asn 290 295 300

Lys Gly Leu Tyr Leu Phe Thr Ala Ser Asn Asn Ser Lys Lys Leu Glu 305 310 315 320

Val Asn Leu Ser Thr Ala Lys Gly Leu Met Phe Asp Ala Thr Ala Ile
325 330 335

Ala Ile Asn Ala Gly Asp Gly Leu Glu Phe Gly Ser Pro Asn Ala Pro 340 345 350

Asn Thr Asn Pro Leu Lys Thr Lys Ile Gly His Gly Leu Glu Phe Asp 355 360 365

Ser Asn Lys Ala Met Val Pro Lys Leu Gly Thr Gly Leu Ser Phe Asp 370 375 380

Ser Thr Gly Ala Ile Thr Val Gly Asn Lys Asn Asn Asp Lys Leu Thr 385 390 395 400

Leu Trp Thr Thr Pro Ala Pro Ser Pro Asn Cys Arg Leu Asn Ala Glu
405 410 415

Lys Asp Ala Lys Leu Thr Leu Val Leu Thr Lys Cys Gly Ser Gln Ile
420 425 430

Leu Ala Thr Val Ser Val Leu Ala Val Lys Gly Ser Leu Ala Pro Ile 435 440 445

Ser Gly Thr Val Gln Ser Ala His Leu Ile Ile Arg Phe Asp Glu Asn 450 455 460

Gly Val Leu Leu Asn Asn Ser Phe Leu Asp Pro Glu Tyr Trp Asn Phe
465 470 475 480

Arg Asn Gly Asp Leu Thr Glu Gly Thr Ala Tyr Thr Asn Ala Val Gly
485 490 495

Phe Met Pro Asn Leu Ser Ala Tyr Pro Lys Ser His Gly Lys Thr Ala
500 505 510

Lys Ser Asn Ile Val Ser Gln Val Tyr Leu Asn Gly Asp Lys Thr Lys
515 520 525

Pro Val Thr Leu Thr Ile Thr Leu Asn Gly Thr Gln Glu Thr Gly Asp
530 535 540

Thr Thr Pro Ser Ala Tyr Ser Met Ser Phe Ser Trp Asp Trp Ser Gly



545

550

555

560

His Asn Tyr Ile Asn Glu Ile Phe Ala Thr Ser Ser Tyr Thr Phe Ser 565 570 575

Tyr Ile Ala Gln Glu Gly Ser Gl

Lys Lys Lys Lys Lys Lys Gly Ser Ala Glu Lys Lys Asp Glu
610 615 620

Gly Pro Tyr Arg Met Glu His Phe Arg Trp Gly Ser Pro Pro Lys Asp 625 630 635 640

【図面の簡単な説明】

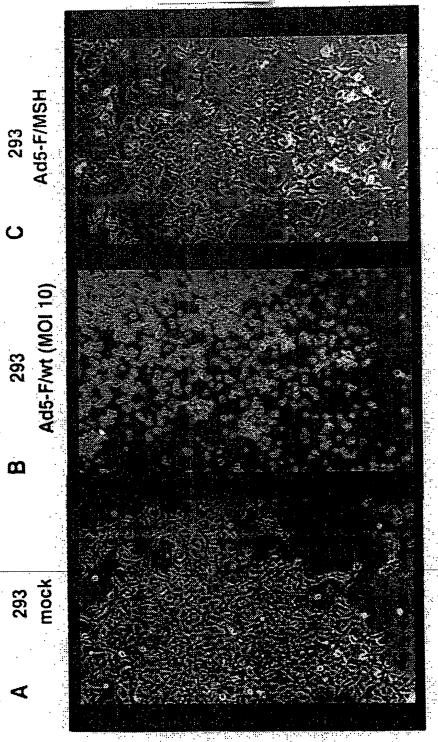
- 【図1】 293細胞に対し、野生型アデノウイルスAd5d1X-F/wtおよびF/MSH変異型アデノウイルスAd5-F/MSHを感染させ4日間培養後の細胞形態を示す図である。Aはコントロールの擬似感染、Bは野生型アデノウイルスAd5d1X-F/wt、CはF/MSH変異型アデノウイルスAd5-F/MSHを感染させたものをそれぞれ示す。
- 【図2】 A375細胞に対し、野生型アデノウイルスAd5d1X-F/wtを感染させ4日間培養後の細胞形態を示す図である。Dはコントロールの擬似感染、EとFは野生型アデノウイルスAd5d1X-F/wtをそれぞれMOI10、30で感染させたものをそれぞれ示す。
- 【図3】 A375細胞に対し、F/MSH変異型アデノウイルスAd5-F /MSHを感染させ4日間培養後の細胞形態を示す図である。

【書類名】

図面

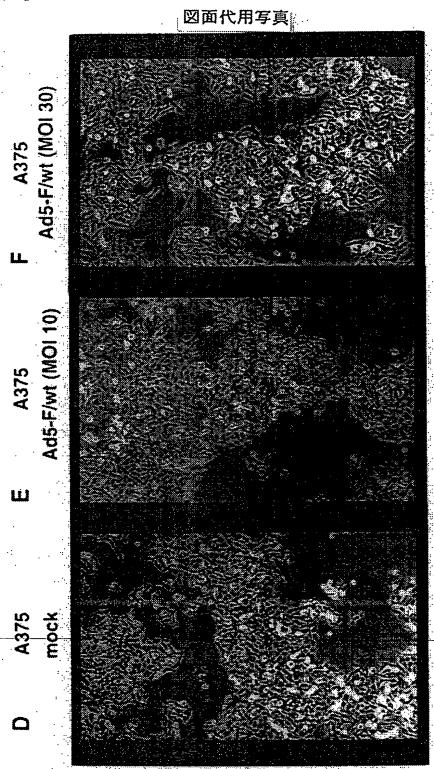
【図1】

図面代用写真





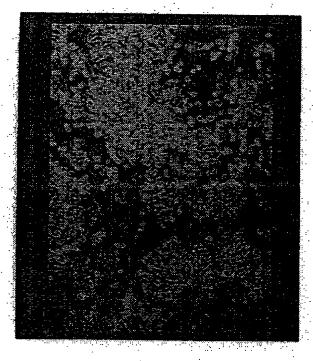
【図2】



【図3】

図面代用写真

G A375 Ad5-F/MSH



3



【書類名】

要約書

【要約】

【課題】

従来の治療に対して抵抗性で予後のきわめて悪い悪性黒色腫等の腫瘍の治療および診断に有用なウイルスベクターおよび当該ウイルスベクターを用いた腫瘍の診断法および治療法が求められている。

【解決手段】

本発明は、ウイルスを構成するタンパク質に、メラニン細胞刺激ホルモン (M S H) 受容体に特異的に結合するリガンドを結合させてなるウイルスベクターおよび、該ベクターを用いた腫瘍に対する診断薬および治療薬を提供する。

【選択図】 図3

29903800144

委 任 状

平成11年 2月 23日

私は,識別番号 100106574 弁理士 岩 橋 和 幸 氏を以って 代理人として下記事項を委任します。

記

1. 特 許 出 願



に関する一切の件並びに本件に関する放棄若しくは取下げ、出願変更、拒絶査定 不服及び補正却下の決定に対する案判の請求並びに取下げ。

2. 上記出願又は 平成 年

黛

号

に基づく「特許法第 41 条第 1 項及び実用新案法第 8 条第 1 項の」優先権主張並び にその取下げ。

- 3. 上記出願の分割出願及び補正却下の決定に対する新たな出願に関する一切の件並び に本件に関する上記事項一切。
- 4. 上記出願に関する審査請求、優先審査に関する事情説明書の提出、刊行物の提出、 実用新案技術評価の請求、証明の請求及び上記出願又は審判請求に関する物件の 下附を受けること。
- 5. 上記山願に係る特許に対する特許異議の申立て又は商標 (防護商標) 登録に対する 登録異議の申立てに関する手続。
- 6. 第1項に関する通常実施権許諾の裁定請求、裁定取消請求並びにそれ等に対する 答弁、取下其他木件に関する提出書類及び物件の下附を受けること。
- 7. 上記各項に関し行政不服審査法に基づく諸手続を為すこと。
- 8. 上記事項を処理する為,復代理人を選任及び解任すること。
 - 住 所 東京都豐島区上池袋一丁口37番1号
 - 氏 名 財団法人 癌 研 究 会 型事長 渡邉 宏

ę,



国際様式

INTERNATIONAL FORM



特許手続上の微生物の客託の国際的承認 に関するフタベスト条約

下記国際寄配当局によって規則 7. 1に従い発行される。

原寄託についての受託証

BUDAPEST TREATY ON THE INTERNATIONAL RECOGNITION OF THE DEPOSIT OF MICROORGANISMS FOR THE PURPOSES OF PATENT PROCEDURE

RECEIPT IN THE CASE OF AN ORIGINAL DEPOSIT

issued pursuant to Rule 7.1 by the INTERNATIONAL DEPOSITARY AUTHORITY identified at the bottom of this page.

氏名 (名称)

財団法人 鉴研究会 理事長 義遵 宏

128

寄託省

あて、名って

東京都最高区上池公一丁目37番1号

,
(受託番号)
FERM BP- 6656
れていた。
,
原舎託口)に受領した1欄の微生物を受託する。
原寄託日)に1権の後生物を受領した。
原が元ロ)に1億00%に数を交割した。 ブダペスト条約に基づく客託への移管箭球を受領した。
>> > 1 XXXXX E = 1 XXX XXX XXX XXX XXX XXX XXX XXX XXX
A
命工学工業技術研究所
命工学工業技術研究所 Oscience and Human-Technology al Science and Technology

.

平成」[年(1999) 2月22日

Tsukuba-shi Ibaraki-ken 305-8566, JAPAN

Dr. Shan a partir Director-General

あて名: 日本国表域県つくは西東(東田工工)(郵便番号305-8566)

1-3, Higashi 1 chome

認定・付加情報

特許出願の番号

平成11年 特許願 第093263号

受付番号

29903800144

書類名

特許願

担当官

清水 スズ子 1350

作成日

平成11年 5月19日

<認定情報・付加情報> 【提出された物件の記事】

【提出物件名】 原寄託についての受託証

1



出 願 人 履 歴 情 報

識別番号

[000173588]

1. 変更年月日 1990年 8月 6日

[変更理由] 新規登録

住 所 東京都豊島区上池袋1丁目37番1号

氏 名 財団法人癌研究会

